

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Medicina y Cirugía Animal



**ESTUDIO CITOGENÉTICO DE DOS POBLACIONES
PORCINAS: EFECTO DE LAS ALTERACIONES
CROMOSÓMICAS SOBRE LOS PARÁMETROS
REPRODUCTIVOS**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Ana Rodríguez Velasco

Bajo la dirección del doctor
Raúl Sánchez Sánchez

Madrid, 2009

• **ISBN: 978-84-692-2769-5**

©Ana Rodríguez Velasco, 2008

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Veterinaria

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO CITOGENÉTICO DE DOS POBLACIONES
PORCINAS: EFECTO DE LAS ALTERACIONES
CROMOSÓMICAS SOBRE LOS PARÁMETROS
REPRODUCTIVOS.**

ANA RODRÍGUEZ VELASCO

**DIRECTOR DE LA TESIS
RAÚL SÁNCHEZ SÁNCHEZ**

MADRID, 2008

Este trabajo ha sido financiado a través del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL) mediante una beca predoctoral y el proyecto de referencia 2005/1302, así como el proyecto CC06-015 realizado en el Departamento de Reproducción Animal y Conservación de Recursos Zoogenéticos del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

A mi familia y a Javi

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer especialmente a mi director de tesis el Dr. Raúl Sánchez Sánchez por su esfuerzo y dedicación sin los cuales este trabajo no habría sido posible y por todos los conocimientos que me ha transmitido.

A las empresas que han colaborado en el desarrollo del trabajo experimental, y especialmente a Miguel y a Marcos por la gran disponibilidad mostrada en todo momento.

Al Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL) por la beca predoctoral que se me concedió y por la financiación del proyecto que ha permitido la realización de esta tesis doctoral.

Al Dr. Carlos San Román Cos-Gayón Jefe del Servicio de Genética Médica del Hospital Ramón y Cajal, por su inestimable ayuda para iniciarnos en el campo de la Citogenética.

A todo el personal del Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL. A Emilio por sus consejos y apoyo durante todo el trabajo experimental. A Laura por su parte de esfuerzo y dedicación en este trabajo, así como por su amistad. Gracias a Edu por su ayuda, por su buen humor y los buenos momentos pasados en el laboratorio. A Alberto, Ángel, Javi, Miguel y Yoli por hacerme agradable el trabajo en el Centro. Finalmente mi más sincero agradecimiento a Elena por su ayuda y apoyo incondicional en esta tesis, su optimismo, sus palabras de ánimo y sobretodo su amistad.

A Ernesto, Mercedes, Caridad y Vicenta del Departamento de Reproducción Animal del INIA, por la gran ayuda prestada en este trabajo, su acogida en el laboratorio y por hacerme mucho más llevaderos mis innumerables viajes y estancias en Madrid.

A mis padres porque gracias a vosotros he llegado hasta aquí y por el apoyo y ánimos que siempre he recibido de vosotros. Gracias a mi hermano por estar a mi lado y siempre hacerme sonreír con su buen humor. Y a mis tíos y mi abuela por apoyarme siempre.

A Javi por estar a mi lado y tus palabras de ánimo, incluso en aquellos momentos de desesperación. Sin tu ayuda esta tesis no habría sido posible.

Gracias a todos los que habéis hecho posible esta tesis.

ABREVIATURAS

%	porcentaje
ADN	ácido desoxirribonucleico
Cat	catálogo
D	Duroc
G	gramos
Gb	gigabase (10^9 pares de bases)
LD	Landrace
LNT	lechones nacidos totales
LNV	lechones nacidos vivos
LNM	lechones nacidos muertos
LW	Large White
ml	mililitro
μ l	microlitro
mOsm	miliosmoles
NBCS	Newborn Calf Serum
P	Pietrain
rcp	translocación recíproca
spz	espermatozoides
vs	versus

RESUMEN

RESUMEN

En las especies de animales domésticos, el impacto de las alteraciones cromosómicas sobre la eficiencia reproductiva de los animales portadores ha sido ampliamente estudiado. En el cerdo (*Sus scrofa domestica*), las alteraciones cromosómicas que se producen con mayor frecuencia son las translocaciones recíprocas. Las consecuencias económicas pueden llegar a ser importantes si el animal portador produce un elevado número de camadas, como es el caso de los reproductores utilizados en centros de inseminación artificial.

El principal objetivo de esta tesis doctoral fue analizar la incidencia de las anomalías citogenéticas en dos poblaciones porcinas, y evaluar el efecto de las translocaciones recíprocas sobre los parámetros reproductivos de los animales portadores.

Para alcanzar este objetivo se realizaron los análisis citogenéticos de los verracos de los centros de inseminación de ambas poblaciones. Los cromosomas mitóticos se obtuvieron a partir de un cultivo de linfocitos de sangre periférica, y las alteraciones cromosómicas se analizaron mediante la técnica de bandeo GTL.

El análisis citogenético de 89 verracos de ambas poblaciones reveló la presencia de 5 verracos portadores de alteraciones cromosómicas que tenían una conformación externa normal. En este estudio se identificaron tres nuevas translocaciones recíprocas: rcp(1;11)(q24;p13) en dos verracos, rcp(3;14)(p14;q24) en otros dos, y rcp(3;18)(q14;q21) en un verraco. Las translocaciones rcp(1;11)(q24;p13) y rcp(3;14)(p14;q24) habían sido heredadas.

La influencia sobre los parámetros reproductivos fue evaluada en reproductoras inseminadas con dosis seminales de los verracos portadores, y los resultados fueron comparados con los obtenidos con verracos contemporáneos con cariotipo normal. El porcentaje de fertilidad obtenido se redujo cuando se utilizaron dosis seminales del verraco portador de la translocación rcp(3;14)(p14;q24). Sin embargo los valores de fertilidad obtenidos en las cubriciones con dosis seminales de los otros verracos portadores de las translocaciones rcp(1;11)(q24;p13) ó rcp(3;18)(q14;q21) no se vieron afectados. El promedio del tamaño de camada descendió cuando las reproductoras eran cubiertas con doble o múltiple inseminación con un 50% de las dosis pertenecientes a los machos portadores de alguna de las tres translocaciones identificadas. El número de lechones nacidos vivos por camada fue significativamente menor en todos los casos ($P < 0,05$). En el análisis de los parámetros espermáticos de los verracos translocados, se confirmó que para el

caso del verraco portador de la translocación $rcp(3;18)(q14;q21)$ estaban dentro de los límites normales, pero el volumen de eyaculado de los verracos portadores de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$ ó la $rcp(3;14)(p14;q24)$ y la concentración espermática del verraco portador de la translocación $rcp(3;14)(p14;q24)$ se vieron reducidos.

Los resultados obtenidos confirman la reducción de la prolificidad que se produce cuando las reproductoras son inseminadas con dosis de verracos portadores de translocaciones cromosómicas recíprocas, incluso utilizando las dosis seminales de los verracos en dobles o múltiples inseminaciones con verracos con cariotipo normal. Este estudio ha permitido además mostrar la reducción del porcentaje de fertilidad debido a la presencia de una de las translocaciones recíprocas identificadas. La pérdida en la eficiencia reproductiva producida por el uso de verracos portadores de translocaciones recíprocas en centros de inseminación artificial, justifican el control cromosómico de los reproductores de las poblaciones porcinas para una detección precoz de posibles alteraciones cromosómicas en el cariotipo.

Palabras clave: cariotipo, verraco, translocación recíproca, fertilidad, prolificidad.

SUMMARY

SUMMARY

The impact of some chromosomal abnormalities on the reproductive performance of carrier animals has been widely documented in livestock species. In pigs (*Sus scrofa domestica*), the most frequently reported chromosomal rearrangements are the reciprocal translocations. The economical consequences can be very important if the carrier animal has a high number of litters, as the reproducers used in artificial insemination centres.

The main objective of this thesis was to analyse the incidence of cytogenetic abnormalities in two pig populations, and to evaluate the effect of reciprocal translocations on the reproductive performance of the carrier animals.

To achieve this objective, the cytogenetic analyses of boars from artificial insemination centres of both populations was performed. The mitotic chromosomes were obtained from cultures of peripheral blood lymphocytes, and rearrangements were analyzed using the GTL banding technique.

The cytogenetic analysis of 89 adult boars of both populations revealed the presence of 5 carriers of chromosomal rearrangements with perfectly normal body conformation. Three new reciprocal translocations were identified in this study: rcp(1;11)(q24;p13) in two boars, rcp(3;14)(p14;q24) in another two boars, and rcp(3;18)(q14;q21) in one boar. The translocations rcp(1;11)(q24;p13) and rcp(3;14)(p14;q24) were inherited.

Reproductive performance was evaluated in sows mated with seminal doses of carrier boars, and results were compared with those obtained from contemporaries normal karyotype boars. The fertility rate was reduced when seminal doses of boar carrying the translocation rcp(3;14)(p14;q24) were used. Nevertheless, fertility values obtained in mating records using seminal doses of the other boars carrying the translocations rcp(1;11)(q24;p13) or rcp(3;18)(q14;q21) were not affected. The average litter size decreased when sows were mated by double or multiple inseminations, with 50% of doses from a carrier boar of one of the three translocations identified. The number of piglets born alive/litter was significantly lower in all cases ($P < 0,05$). The analysis of semen parameters of translocated boars confirmed a normal semen picture of boar carrying the translocation rcp(3;18)(q14;q21), but the ejaculate volume of the boars carrying the translocations rcp(1;11)(q24;p13) or rcp(3;14)(p14;q24) and the sperm concentration of boars carrying the translocation rcp(3;14)(p14;q24) was reduced.

The results obtained confirmed the reduction on prolificacy when sows are inseminated with seminal doses of boars carrying a reciprocal chromosomal translocation, even using boar's seminal doses in doubles or multiple inseminations with normal karyotype boars. The results obtained in this study clearly show the decrease in fertility rates caused by the presence of one of the translocations identified. The loss on reproductive performance produced by the use of boars carrying reciprocal translocations in artificial insemination centres, justifies the chromosomal control of reproducers of pig populations for early detection of possible chromosomal rearrangements on their karyotype.

Keywords: karyotype, boar, reciprocal translocation, fertility, prolificacy.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
2.1	Los cromosomas: estructura y función	9
2.1.1	Condensación del ADN: formación de los cromosomas	9
2.1.2	Estructura externa de los cromosomas	12
2.2	El cariotipo y las técnicas de análisis citogenético	14
2.2.1	Bandeos cromosómicos	15
2.2.2	Nomenclatura de las bandas cromosómicas	18
2.2.3	Evolución de los estudios citogenéticos	19
2.2.4	Desarrollo de la citogenética molecular	22
2.3	El ciclo y la división celular	23
2.3.1	La mitosis	24
2.3.2	La meiosis	26
2.3.3	La gametogénesis	29
2.4	Las alteraciones cromosómicas	31
2.4.1	Tipos de alteraciones cromosómicas	31
2.4.2	Nomenclatura estándar de las alteraciones cromosómicas	37
2.5	Alteraciones cromosómicas identificadas en porcino	38
2.5.1	Alteraciones cromosómicas numéricas	39
2.5.2	Alteraciones cromosómicas estructurales	41
2.5.2.1	Translocaciones Robertsonianas	41
2.5.2.2	Inversiones	42
2.6	Las translocaciones cromosómicas recíprocas en la especie porcina	43
2.6.1	Incidencia de las alteraciones cromosómicas de tipo estructural en la especie porcina	45
2.6.2	Fragilidad del genoma porcino	47
2.7	Repercusiones de las translocaciones recíprocas sobre la reproducción en la especie porcina	49
2.7.1	Consecuencias sobre la gametogénesis	50
2.7.2	Efectos sobre la mortalidad embrionaria, la prolificidad y la fertilidad	60

2.7.3	Efectos sobre la mortalidad de lechones y aparición de malformaciones congénitas	63
2.8	Control cromosómico de las poblaciones porcinas	68
3	OBJETIVOS	71
4	MATERIAL Y MÉTODOS	75
4.1	Animales	79
4.2	Análisis citogenético	80
4.2.1	Recogida y transporte de las muestras de sangre	80
4.2.2	Técnica de cultivo de linfocitos de sangre periférica	81
4.2.3	Ruptura de membranas y fijación celular	82
4.2.4	Extensión de las preparaciones cromosómicas	83
4.2.5	Técnica de bandeo cromosómico	83
4.2.6	Análisis microscópico	84
4.3	Valoración de los parámetros espermáticos	87
4.4	Metodología de la inseminación artificial en las explotaciones	88
4.5	Evaluación de los parámetros reproductivos en las poblaciones Estudiadas	89
4.6	Análisis estadístico	90
5	RESULTADOS	93
5.1	Resultados de la población A	95
5.1.1	Resultados obtenidos con el verraco portador 1	96
5.1.1.1	Análisis citogenético	96
5.1.1.2	Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador	98
5.1.2	Resultados obtenidos con el verraco portador 2	102
5.1.2.1	Análisis citogenético	102
5.1.2.2	Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador	104
5.1.3	Apreciación de la viabilidad post-parto de los lechones nacidos de los verracos 1 y 2	108
5.1.4	Estudio de la calidad espermática de los verracos portadores de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$	109

5.2	Resultados de la población B	111
5.2.1	Resultados obtenidos con el verraco portador 3	112
5.2.1.1	Análisis citogenético	112
5.2.1.2	Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador	114
5.2.2	Resultados obtenidos con el verraco portador 4	118
5.2.2.1	Análisis citogenético	118
5.2.2.2	Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador	120
5.2.3	Estudio de la calidad espermática de los verracos portadores de la translocación rcp(3;14)(p14;q23)	128
5.2.4	Resultados obtenidos con el verraco portador 5	129
5.2.4.1	Análisis citogenético	129
5.2.4.2	Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador	131
5.2.4.3	Estudio de la calidad espermática del verraco portador de la translocación rcp(3;18)(q14;q21)	137
6	DISCUSIÓN	141
6.1	Caracterización de las translocaciones recíprocas identificadas	143
6.2	Efectos de las translocaciones recíprocas sobre el fenotipo	143
6.3	Origen de las translocaciones recíprocas identificadas	144
6.4	Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la fertilidad	145
6.5	Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la prolificidad	146
6.6	Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la calidad espermática	147
6.7	Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la descendencia	157
7	CONCLUSIONES	161
8	ANEXO	165
9	INDICE DE FIGURAS Y TABLAS	179
10	BIBLIOGRAFÍA	185

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La importancia del sector porcino en España se refleja en el censo de la producción a nivel mundial, situándose como quinto país productor por detrás de China, Estados Unidos, Brasil y Alemania (FAO, 2004). A nivel europeo, España es el segundo productor de porcino con un censo de 26.061.000 animales (MAPA, Diciembre 2007), muy próximo de Alemania que es el primer productor con 26.948.000 de animales censados (Eurostat, 2007). En lo que se refiere a la distribución del censo porcino por autonomías, Castilla y León es la tercera comunidad autónoma después de Cataluña y Aragón, pero la primera en cuanto al número de verracos con el 18,22% del total censados (MAPA, Diciembre 2007). El consumo de carne de cerdo por habitante y año en España es también muy elevado (67,5 kg/habitante/año, MAPA, Diciembre 2007), situándose muy por encima de la media en la Unión Europea (43,5 kg/habitante/año, Eurostat 2007).

Los avances en áreas como la sanidad, la genética, la reproducción, la nutrición o los sistemas de producción han permitido llegar a la situación actual del sector porcino en España a nivel mundial. Los programas de mejora genética en porcino se centran tanto en aspectos productivos, como también en los caracteres reproductivos. Existe una especialización diferencial de las líneas genéticas paterna y materna. En el caso de las líneas paternas, en los machos finalizadores se da prioridad a determinadas aptitudes relacionadas con el rendimiento zootécnico o calidad de los productos cárnicos. En cambio en las razas utilizadas como línea materna la selección prioritaria se ha orientado en la obtención animales con buenas aptitudes reproductivas, con el fin de mejorar la productividad de las cerdas (número de lechones destetados por cerda y año), que es el índice de mayor repercusión sobre la rentabilidad de las explotaciones porcinas. Como resultado de la mejora genética en la especie porcina y de los avances en las técnicas reproductivas se está produciendo continuamente la evolución creciente de los índices reproductivos obtenidos en los últimos 40 años. La productividad numérica de las cerdas (lechones destetados por cerda y año) se ha ido incrementado progresivamente gracias entre otros aspectos a la obtención de mayores tasas de fertilidad, a la reducción del porcentaje de mortalidad embrionaria, a una mayor supervivencia de los lechones y a un acortamiento del intervalo entre partos. El desarrollo y difusión a gran escala de la inseminación artificial en la especie porcina, la ha

enmarcado como una de las tecnologías reproductivas que mayor impacto ha tenido sobre este sector ganadero, gracias al máximo aprovechamiento del potencial genético de los verracos que presentan unas mejores cualidades. Los datos obtenidos de la Base de Datos de Referencia del Porcino Español (BDpore), indican que en España tan solo desde el año 2000 al 2007 la productividad numérica de las cerdas se ha incrementado en 1,8 lechones destetados más por cerda en producción y año. Asimismo la prolificidad (número de lechones nacidos totales por camada) se ha visto incrementada de 11,3 a 11,99 lechones en ese periodo. En los datos procedentes del MAPA se observa como entre el año 1970 y el 2001 la productividad de las cerdas aumentó de 16.3 a 22 lechones destetados por cerda y año.

La selección en porcino tiene una estructura piramidal, lo que supone que la mejora genética se realiza en la cúspide de la pirámide y progresivamente se va transfiriendo a los diferentes niveles hasta llegar a la base. La selección de los futuros reproductores en esta estructura piramidal se realiza mediante diferentes métodos de evaluación que intentan predecir el valor genético de los animales en función de caracteres productivos, fenotípicos, reproductivos...etc. Recientemente se ha iniciado la aplicación de nuevas herramientas como la biología molecular mediante la selección asistida por marcadores moleculares, o la detección directa de genes que codifican para caracteres con un interés comercial. Además los reproductores seleccionados deben ser controlados para evitar la difusión de animales portadores de alteraciones genéticas o cromosómicas dentro de la estructura piramidal, debido al efecto multiplicador que existe desde los niveles más elevados hasta la base de la pirámide. Estas alteraciones muchas veces se manifiestan en el fenotipo del animal, pero en otros casos como ocurre con algunas alteraciones cromosómicas no es así y únicamente se pueden detectar mediante los análisis citogenéticos de los animales.

La presencia de alteraciones cromosómicas en el cariotipo puede afectar en algunos casos a la viabilidad del individuo, sin embargo existen algunos tipos de alteraciones que implican cambios estructurales en los cromosomas y que en estado heterocigoto únicamente se manifiestan en la etapa reproductiva del animal. Un tipo de estas alteraciones son las translocaciones cromosómicas recíprocas, que se ha demostrado que presentan una mayor incidencia en la especie porcina respecto a otras especies animales estudiadas (Popescu y Legault, 1988), siendo la incidencia en porcino similar a la que aparece en humanos. La consecuencia más llamativa de dichas translocaciones cromosómicas sobre la reproducción se debe principalmente al aumento de la mortalidad embrionaria observada cuando uno de

los progenitores es portador de dicha alteración (Gustavsson *et al.*, 1989), traducándose en un descenso del tamaño de camada. Indudablemente, la repercusión de la presencia de una alteración cromosómica es mayor en los verracos que en las hembras, sobretodo si se utilizan en régimen de inseminación artificial o si se trata de reproductores que se sitúan en los niveles más elevados de la pirámide genética (Long, 1991).

En resumen y debido a las importantes repercusiones que las alteraciones cromosómicas tienen sobre la reproducción, el análisis citogenético de los reproductores porcinos se podría plantear como una herramienta fundamental en la selección de animales destinados a la reproducción. Esto evitaría la difusión de alteraciones cromosómicas que perjudican a los índices reproductivos generando pérdidas económicas importantes que afectan gravemente a la rentabilidad de las explotaciones porcinas.

***REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA***

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Los cromosomas: estructura y función

La citogenética surgió como una ciencia híbrida entre la Citología y la Genética, heredando de la primera los aspectos cualitativos, físicos y descriptivos, mientras que sus enfoques cuantitativo y fisiológico proceden de la segunda (Swanson, 1960). Una posible definición de la citogenética es la propuesta por Lacadena (1995), como la ciencia que estudia el cromosoma bajo cualquier nivel o dimensión.

El término cromosoma fue introducido por Waldeyer en 1888, y se define como el material hereditario organizado cuya estructura adquiere complejidad creciente en la evolución, pasando de simples moléculas desnudas de ácidos nucleicos en algunos procariontes a asociaciones complejas de ácidos nucleicos con proteínas histonas y no histonas como componentes químicos mayoritarios en eucariontes (Lacadena, 1996). Las dos funciones principales del cromosoma son la de transmitir la información genética de célula a célula y de generación a generación, y la de liberar de forma ordenada la información para controlar las funciones celulares y el desarrollo del organismo (Rieger *et al.* 1991).

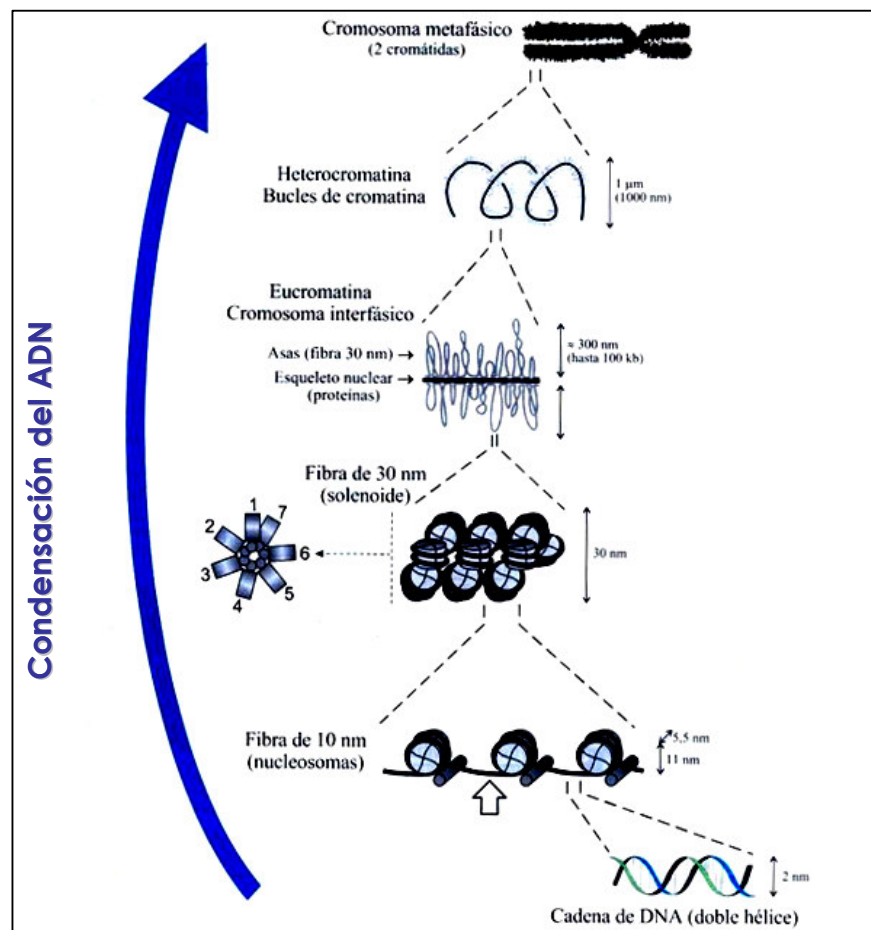
2.1.1. Condensación del ADN: formación de los cromosomas

El estado de condensación del ADN en el núcleo de los cromosomas varía en función del estado del ciclo celular. Durante la etapa denominada interfase, definida como la etapa intermedia entre dos divisiones celulares y la de mayor duración del ciclo, el ADN y las proteínas asociadas se encuentran formando la estructura denominada cromatina. Al contrario, el grado de mayor condensación del ADN formando los cromosomas se presenta durante un periodo muy corto de tiempo, en la etapa de metafase de la división celular. Es por lo tanto únicamente en esa etapa cuando se pueden observar los cromosomas, y por lo tanto estudiar.

La cromatina presente en el núcleo celular durante la etapa de la interfase está formada principalmente por ADN, histonas, proteínas no histónicas y ARN (Rieger, *et al.*,

1976). Las histonas son proteínas que interaccionan con el ADN. Los diferentes grados de condensación del ADN se muestran en la Figura 1. La doble hélice de ADN tiene un diámetro de unos 2 nm, adquiriendo un tamaño de unos 11 nm de diámetro cuando se forman los nucleosomas que son unas subunidades formadas por un octámero de histonas alrededor del cual se enrolla el ADN. Éstos a su vez se pueden empaquetar formando la estructura denominada solenoide, de unos 30 nm de diámetro y que constituye las fibras de cromatina en los núcleos interfásicos. Las fibras de cromatina sufren un plegamiento mayor en una serie de dominios en bucle denominados supersolenoides que miden unos 600-700 nm siendo el nivel de enrollamiento que constituyen las fibras de los cromosomas metafásicos. El mayor grado de condensación del ADN que se produce en los cromosomas durante la metafase de la división celular implica a una inhibición total de la transcripción.

Figura 1: Grados de condensación del ADN (modificado de Luque y Herráez, 2006).



Las fibras de cromatina en la etapa de la interfase del ciclo celular pueden presentar dos grados de condensación, que se denominan con los términos de eucromatina y heterocromatina. En la interfase la mayor parte de las fibras de cromatina están poco condensadas formando la eucromatina. Sin embargo, la heterocromatina define a algunas fibras minoritarias que aparecen altamente condensadas en la interfase, con una organización comparable a la de los cromosomas durante la mitosis. Además de la diferencia en el grado de condensación del ADN, ambos tipos de cromatina difieren en:

- El momento de replicación durante la fase S de síntesis del ADN previa a la división celular: las regiones de eucromatina son de replicación temprana y las de heterocromatina son de tardía.
- La expresión génica: la eucromatina es transcripcionalmente activa mientras que la heterocromatina es inactiva, en parte debido al elevado grado de condensación de ésta última.
- La sensibilidad a las nucleasas: es mayor en la eucromatina que en la heterocromatina, debido a que durante la transcripción las regiones en configuración abierta son accesibles también a dichas enzimas.

Existen a su vez dos formas diferentes de heterocromatina:

- Heterocromatina constitutiva: es la formada por secuencias repetidas de ADN, que son transcripcionalmente inactivas, ya que se encuentra altamente condensadas de manera permanente. Únicamente se descondensan el tiempo mínimo para la replicación del ADN en la fase S del ciclo celular. Se trata por ejemplo de unas secuencias de ADN satélite que se sitúan en las regiones teloméricas de los cromosomas. Además se caracteriza por su alto contenido en proteínas.
- Heterocromatina facultativa: es en realidad ADN de eucromatina pero que se inactiva en determinadas células del individuo pasando al estado de heterocromatina. Se trata por ejemplo de la cromatina que forma uno de los dos cromosomas X de la mujer relacionándose con su inactivación.

Inicialmente la cromatina fue clasificada en estas dos clases por su reacción diferente a la tinción, debido a que con diversos tratamientos se puede inducir a la aparición de

regiones con una tinción diferencial, originando una distribución característica en cada especie que recibe el nombre de bandeo cromosómico. Éste permite la distinción de cada uno de los cromosomas de un individuo y por lo tanto supuso una herramienta fundamental en estudios del cariotipo (Lacadena, 1996).

2.1.2. Estructura externa de los cromosomas

La forma, tamaño y número de los cromosomas se estudian por lo tanto en la metafase mitótica, que corresponde al momento del máximo grado de condensación y permitiendo que puedan ser observados perfectamente con un microscopio óptico. En ese momento los cromosomas están formados por dos cromátidas idénticas, y se sitúan en el centro de la célula en la denominada placa ecuatorial.

Los extremos de los cromosomas se denominan telómeros y son cruciales en la vida de la célula, puesto que son necesarios para la duplicación completa del cromosoma, los protegen de las nucleasas, evitan que los extremos del cromosoma se fusionen entre sí y facilitan la interacción del cromosoma con la envoltura nuclear.

La constricción primaria o centrómero (Figura 2) divide el cromosoma en dos brazos cromosómicos, siendo la región por dónde se unen mediante la estructura denominada cinetocoro al huso mitótico en la mitosis. El centrómero tiene secuencias muy ricas en nucleótidos AT y se trata de heterocromatina constitutiva.

La posición del centrómero, determina el largo de los brazos del cromosoma y en base a esto se puede clasificar a los cromosomas en (Figura 3):

- Metacéntricos: el centrómero se sitúa en posición central y determina brazos de igual longitud
- Submetacéntricos: un par de brazos cromosómicos es más corto que el otro par, puesto que el centrómero se encuentra alejado del centro.
- Acrocéntricos o subtelocéntrico: el centrómero se halla próximo a uno de los extremos, y por lo tanto el brazo corto es casi inexistente.
- Telocéntrico: cuando el centrómero está en localización terminal.

Figura 2: Esquema de un cromosoma metafásico.

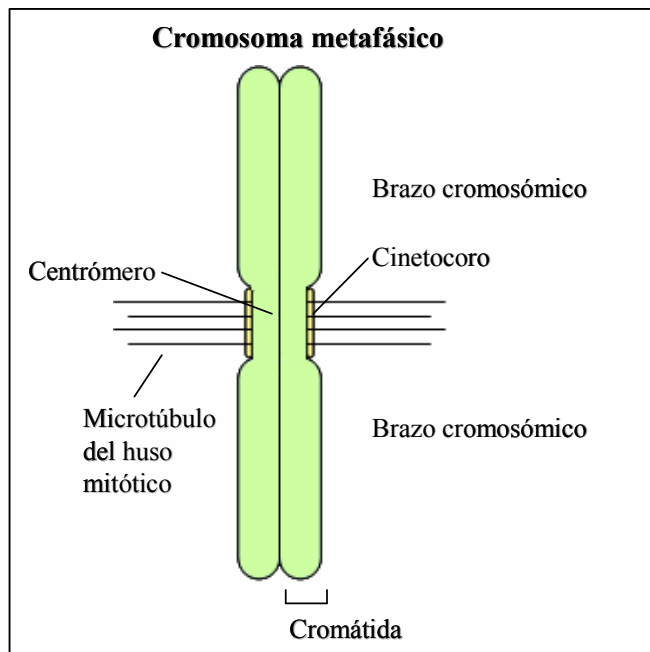
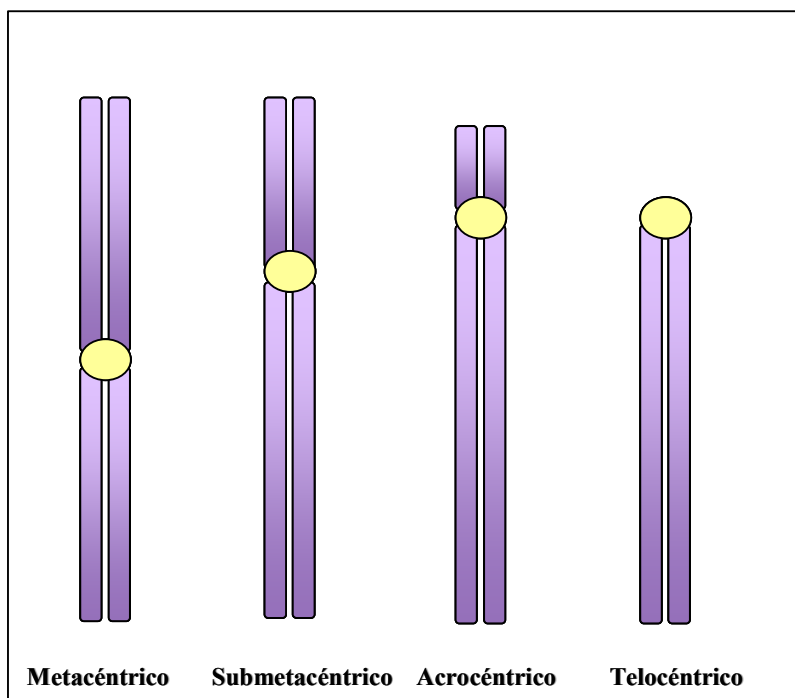


Figura 3: Tipos de cromosomas.



Los cromosomas acrocéntricos poseen una masa de cromatina llamada satélite, en el extremo del brazo corto. El satélite se halla aislado del resto del cromosoma por una pequeña estrangulación sobre las cromátidas denominada constricción secundaria.

2.2 El cariotipo y las técnicas de análisis citogenético

El número, forma y tamaño de los cromosomas es constante en todas las células de un organismo y es característico de cada especie. El número característico de pares de cromosomas homólogos se denomina número diploide ($2n$). Existe un enorme rango de variación en el número de cromosomas de las diferentes especies animales (Tabla 1). En el caso del cerdo el número diploide es 38, de los cuales 18 pares son autosomas y el par restante son los cromosomas sexuales (XX en la hembra y XY en el macho). Los cromosomas porcinos se dividen en submetacéntricos, metacéntricos y acrocéntricos. El tamaño del genoma porcino se estima en aproximadamente 2.7Gb (http://www.sanger.ac.uk/Projects/S_scrofa/).

Tabla 1: Número cromosómico en diferentes especies animales.

Nombre común	Nombre científico	Número diploide de cromosomas
Perro	<i>Canis familiaris</i>	78
Gato	<i>Felis domesticus</i>	38
Toro	<i>Bos taurus</i>	60
Caballo	<i>Equus calibus</i>	64
Hombre	<i>Homo sapiens</i>	46
Cerdo	<i>Sus scrofa</i>	38
Conejo	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	44
Ratón	<i>Mus musculus</i>	40
Pollo	<i>Gallus domesticus</i>	78

El ordenamiento de los cromosomas homólogos en función de su tamaño y forma constituye el cariotipo, y la representación esquemática estableciendo el mapa estándar de

cada especie es el idiograma. Para el caso del cerdo el cariotipo estándar se estableció en 1988 (Gustavsson, 1988a).

2.2.1 Bandeos cromosómicos

Como se ha comentado anteriormente, las características diferenciales de tinción del cromosoma permiten en la mayoría de las especies la generación de bandas a lo largo de toda su estructura. En el caso de los mamíferos, esta compartimentación del genoma se ha conservado a lo largo de toda su evolución. El patrón de bandas es específico y diferencial de cada par de cromosomas homólogos, lo que convierte a las técnicas de bandeo cromosómico en una herramienta muy útil en el estudio del cariotipo. Entre algunas de las aplicaciones que han permitido estas técnicas se encuentran: el estudio de la estructura y función de los cromosomas, la realización de diagnósticos en genética clínica, y la interpretación de aspectos evolutivos entre los genomas de diferentes especies (Bella *et al.*, 1995).

Las bandas definen grandes regiones en los cromosomas llamadas isocoros, y definidas según la ISCN (*International System for Human Cytogenetics Nomenclature*) como una parte del cromosoma que se distingue claramente de los segmentos adyacentes por aparecer más clara (bandas negativas) u oscura (bandas positivas) mediante una o varias técnicas de tinción. La resolución de bandas obtenida con una determinada técnica se define por el número de bandas totales observadas en un determinado cariotipo. No obstante, el número de bandas observado en cada cromosoma no es constante, y está dinámicamente relacionado con el estado de condensación del ADN a lo largo del ciclo celular. El bandeo de los cromosomas en etapas previas a la metafase de la mitosis (en profase o prometafase), cuando todavía se encuentran en un estado relativamente descondensado y tienen una mayor longitud, permite observar un mayor número de bandas que cuando se encuentran en la etapa de metafase. Así se consigue la obtención de bandeos de alta resolución.

Hasta finales de la década de los 60 mediante microscopía óptica únicamente se podía observar en la estructura de los cromosomas el centrómero. En 1968 Caspersson *et al.* introdujeron la primera técnica basada en la diferenciación de los cromosomas por un bandeo transversal, mediante técnicas de fluorescencia con mostaza de quinacrina y sus derivados. Se observó como el patrón de bandas era el mismo para cualquier tejido dentro de

una misma especie, y que no cambiaba durante el desarrollo. Poco después fueron apareciendo nuevas técnicas de bandeo mediante el uso del colorante Giemsa con diferentes pretratamientos como el bandeo G (Sumner *et al.*, 1971 y Seabright, 1971), así como las técnicas de tinción inversa (bandeo R) (Dutrillaux y Lejeune, 1971). Éstos últimos proponían un nuevo método en el que se incorporaba BRdU (bromodeoxiuridina) en el cultivo en la fase temprana o tardía de replicación del ADN, demostrando así que las bandas G eran de replicación tardía y las R de replicación temprana. En 1971 en la Conferencia de París (*Paris Conference* 1971, suplemento 1975) se estableció la clasificación en 6 tipos diferentes de bandeo: bandas Q, G, R, T, C y Feulgen. En esa misma conferencia se consensuó la codificación de tres letras en la nomenclatura de los bandeos, la primera indicando el tipo de bandeo, la segunda la técnica general y la tercera la tinción utilizada (Tabla 2). El patrón de bandas G, Q y R es esencialmente el mismo, diferenciándose en que las bandas G y Q positivas son R negativas y viceversa. Las principales características de los bandeos cromosómicos más utilizados son las siguientes (Luque y Herráez, 2006):

- **Bandeo G:** Es el más utilizado para la tinción de las bandas de eucromatina por ser sencillo y no requerir el uso de un microscopio de fluorescencia. La técnica se basa en una desnaturalización controlada de las proteínas cromosómicas, generalmente por digestión con tripsina, seguida de la tinción con colorante tipo Giemsa. Las bandas G positivas (oscuras) tienen un contenido rico en pares de bases AT (55-60%), siendo regiones de cromatina altamente condensada y por lo tanto relativamente inactivo transcripcionalmente.
- **Bandeo Q:** Los cromosomas se tiñen con un compuesto fluorescente como la mostaza de quinacrina o Hoechst 33258, que se intercalan con la hélice de ADN y por lo tanto su observación se realiza mediante un microscopio de fluorescencia. El patrón de bandas es similar al bandeo G.
- **Bandeo R:** Proporciona el patrón complementario (inverso) al producido por el bandeo G y Q. En este bandeo las regiones terminales del cromosoma se tiñen, con lo que permite determinar fácilmente el extremo de los cromosomas. Las bandas R se obtiene incubando las preparaciones en tampón fosfato a 85-90°C para desnaturalizar el ADN, seguido de una tinción con Giemsa. Las bandas R contienen ADN rico en pares de bases GC (50-60%), siendo regiones de baja

condensación de la cromatina y por lo tanto relativamente activas transcripcionalmente

- **Bandeo C:** Así como las bandas G, Q y R corresponden a regiones de eucromatina, las bandas C corresponden a zonas de heterocromatina constitutiva. Generalmente se localizan en las regiones centroméricas, en algunos telómeros y en regiones adyacentes a los centros de organización nucleolar.
- **Bandeo T:** Identifica un subconjunto de bandas R especialmente concentradas en los telómeros, y que se visualizan mediante un tratamiento térmico previo a la tinción de los cromosomas con el colorante o los fluorocromos.
- **Tinción NOR:** Se trata de una tinción específica para la región organizadora del nucleolo, y que contiene los genes que codifican para el RNA ribosómico.

Tabla 2: Nomenclatura de los bandeos cromosómicos (Lacadena, 1996).

Nomenclatura	Descripción del bandeo
QFQ	Bandas Q por fluorescencia usando quinacrina
QFH	Bandas Q por fluorescencia usando Hoechst 33258
GTG	Bandas G por tripsina usando Giemsa
GTL	Bandas G por tripsina usando Leishman
CBG	Bandas C por hidróxido de bárico usando Giemsa
RFA	Bandas R por fluorescencia usando naranja de acridina
RHG	Bandas R por calor usando Giemsa
THA	Bandas T por calor usando naranja de acridina
THG	Bandas T por calor usando Giemsa

En humanos se ha observado que cada tipo de banda tiene una densidad de genes característica. Así en las bandas R y T se concentran la mayoría de los genes y tan solo un

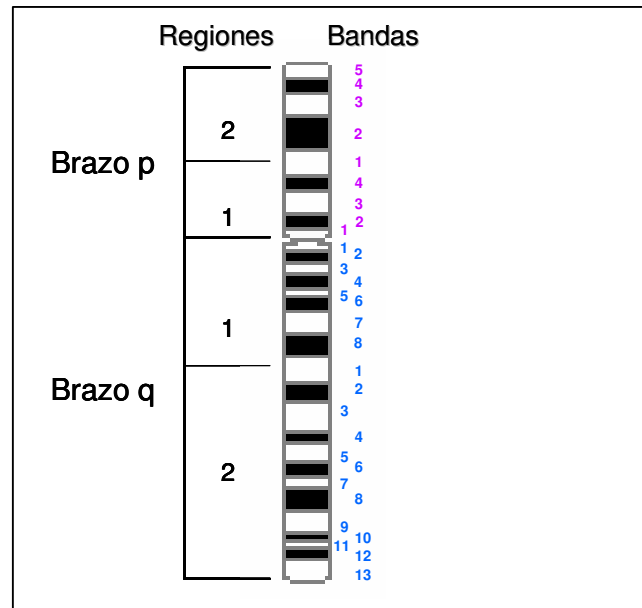
20% de los genes se concentran en las bandas G o Q (Bickmore y Sumner, 1989). Las bandas C sin embargo están desprovistas de genes.

2.2.2 Nomenclatura de las bandas cromosómicas

En 1960, tuvo lugar en Denver (*Denver Conference*, 1960) el primer encuentro internacional entre varios citogenetistas que propusieron un sistema estándar de nombramiento de los cromosomas humanos. Desde ese año surgieron nuevas propuestas para intentar consensuar una nomenclatura estándar internacional, y en las que se iba perfeccionando la identificación de los cromosomas, como por ejemplo la introducción de la nomenclatura de cada brazo cromosómico como p (*petit*) y q (*queu*) por Lejeune (*Chicago Conference*, 1966), o con la introducción del bandeo cromosómico (Paris Conference 1971). En los siguientes años con la obtención de preparaciones cromosómicas en las que se iban incrementando la resolución de bandas, fue surgiendo la necesidad de modificar los sistemas de nomenclatura, a medida que se iban identificando nuevas bandas. El sistema de nomenclatura de las bandas cromosómicas de los cariotipos de las especies animales es el mismo que se utiliza en el cariotipo humano ISCN 1995 (*International System for Human Cytogenetics Nomenclature*), si bien cada especie tiene establecido su propio cariotipo estándar.

En la nomenclatura actualmente utilizada del cariotipo, el brazo “q” se coloca en la parte inferior y el brazo “p” en la parte superior del cromosoma. La numeración de las bandas comienza desde el centrómero y continúa hacia el extremo de cada brazo cromosómico, dividiéndose en grandes regiones cromosómicas que reciben una numeración consecutiva. A su vez cada región se subdivide en bandas, que con la evolución de las técnicas y la aparición de bandeos de alta resolución se fueron dividiendo en nuevas sub-bandas. La nomenclatura final de una determinada banda, incluye por lo tanto: el número de cromosoma seguido del brazo (p ó q) al que pertenece, el número de región, el de la banda y el de la sub-banda separada por un punto decimal (Figura 4).

Figura 4: Idiograma de bandas G del cromosoma 1 porcino.



2.2.3 Evolución de los estudios citogenéticos

El periodo de 1956 a 1962 fue crucial para la citogenética humana y animal, estableciéndose el cariotipo humano y el de algunas especies animales. Además se empezaron a relacionar algunas enfermedades existentes con la presencia de alteraciones cromosómicas. Entre 1956 y 1958 se estableció definitivamente el cariotipo humano como $2n=46$ (Tjio y Levan, 1956; Hamerton y Ford 1956; Tjio y Puck, 1958). Esto fue posible gracias a los avances en diversos aspectos de las técnicas citogenéticas empleadas: el cultivo celular, el uso de la colchicina como droga antimitótica, y la utilización de un tratamiento hipoosmótico celular para favorecer la extensión de los cromosomas metafásicos. Uno de los avances más importante fue el descubrimiento por Moorhead *et al.* (1960) de la fitohemaglutinina como un mitógeno muy potente de los linfocitos, facilitándose la metodología al poder estudiar el cariotipo a partir de células sanguíneas en vez de tener que recurrir a biopsias de médula ósea como se hacía hasta el momento.

La demostración posterior de que las células del líquido amniótico podían crecer en cultivo (Steele y Breg, 1966) y ser cariotipadas, permitió el desarrollo de los análisis prenatales en humanos para la detección precoz de posibles alteraciones cromosómicas.

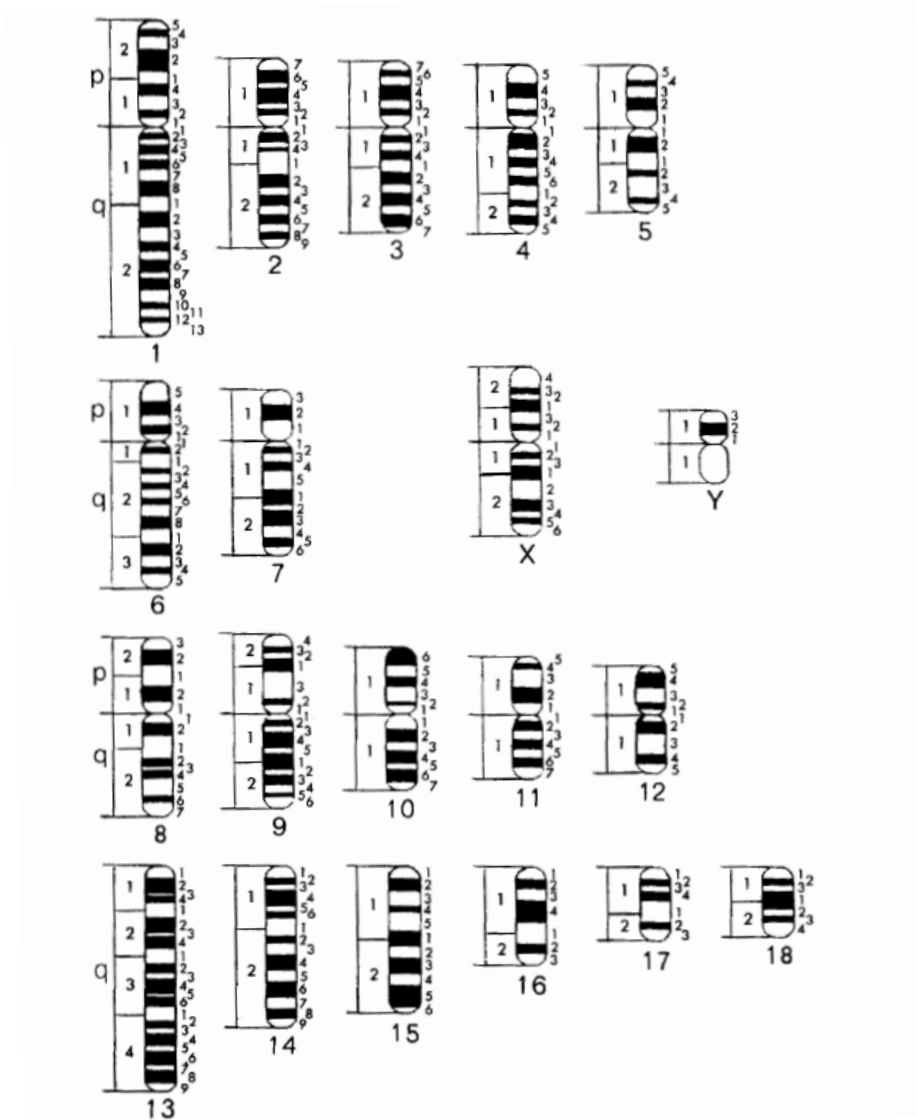
Los primeros estudios citogenéticos en animales, igual que en la especie humana, fueron encaminados a la descripción de los cariotipos en diferentes especies, pero estaban muy limitados puesto que no se disponía de las técnicas de bandeo cromosómico. El primer estudio de los cromosomas del cerdo fue publicado en 1913 (Woodsdalek), proponiéndose un número diploide de 16 cromosomas en el macho y 18 en la hembra y sugiriendo un mecanismo de determinación del sexo del tipo XX-0. Posteriormente varios autores encontraron que el número diploide de la especie porcina era de 40 cromosomas (Hance, 1917; Makino, 1944; Sachs, 1954; Spalding y Berry, 1956; Aparicio, 1960), mientras que otros proponían finalmente el número de 38 cromosomas (Krallinger, 1931; Bryden, 1933; Muldal, 1948 ; Ruddle, 1961).

A partir de 1970 y con la aparición de diferentes métodos de bandeo cromosómico se propusieron los primeros cariotipos animales estandarizados (Ford *et al.*, 1980). La nomenclatura cromosómica en citogenética animal fue sufriendo diferentes modificaciones y propuestas hasta llegar a la nomenclatura estándar que se conoce hoy en día de las diferentes especies. Los primeros cariotipos de bandas en porcino se presentaron en 1972 (Gustavsson *et al.*, 1972). Sin embargo tuvieron que sucederse diferentes propuestas (Hansen, 1977; Lin *et al.*, 1980; Voiculescu y Lungeanu, 1980), hasta que en 1988 se presentó el cariotipo estándar definitivo del cerdo (bandas G y R) (Gustavsson, 1988a). El cariotipo de bandas G propuesto (Figura 5) tenía una resolución de 287 bandas, indicando los autores la posibilidad de que en un futuro con el desarrollo de nuevas técnicas se pudiera incrementar su resolución. Efectivamente en 1991 Yerle *et al.* publicaron el patrón de bandas GTG de alta resolución del cariotipo porcino consiguiendo identificar 539 bandas. Este nuevo patrón permitía la detección más detallada de reordenamientos cromosómicos y un mejor estudio de homología cromosómica entre diferentes especies.

La primera Conferencia Europea de Citogenética en Animales Domésticos se celebró en Giessen en 1970, teniendo lugar la segunda edición en esa misma ciudad en 1975 y desde entonces se viene realizando cada dos años. La versión norteamericana de esta conferencia empezó en 1978. A nivel internacional la primera reunión tuvo lugar en 1976 (Ford *et al.*, 1980), en la que se propusieron los cariotipos mediante bandeo GTG de muchas especies

domésticas, entre ellas el cerdo. En 1989 tuvo lugar una segunda conferencia internacional en Jouy-en-Josas, dónde se presentaron los cariotipos por bandas Q, G y R en la especie bovina y se establecieron los idiogramas, la nomenclatura de las bandas y los cariotipos de bandas R de la oveja y la cabra (DiBerardino, *et al.*, 1990).

Figura 5. Idiograma de bandas G del cariotipo porcino (Gustavsson, 1988a).



Además de la aportación de estas reuniones al establecimiento de los cariotipos estándar para las diferentes especies de animales domésticos, desde los años 70 se empezaron a investigar las repercusiones de la presencia de diferentes anomalías cromosómicas en la reproducción, que se relacionaban con la aparición de problemas reproductivos. Posteriormente se fueron iniciando los estudios citogenéticos también en gametos y embriones de animales portadores, para determinar los efectos de dichas anomalías concretamente sobre la meiosis en el animal portador.

2.2.4 Desarrollo de la citogenética molecular

Además de las técnicas de análisis del cariotipo en células en la etapa de metafase, seguidas de bandeos cromosómicos, denominada citogenética clásica, a partir de los años 80 se introdujeron las técnicas de citogenética molecular. Entre ellas la FISH (hibridación *in situ* fluorescente) ha sido la que más se ha desarrollado para el estudio de anomalías cromosómicas en humanos. No obstante el desarrollo de la citogenética molecular en especies animales ha sufrido un gran retraso respecto a su aplicación en estudios en humanos.

La FISH es una nueva tecnología que utiliza sondas de ADN marcadas para detectar o confirmar anomalías génicas o cromosómicas que generalmente están más allá del poder de resolución de la citogenética clásica. El principal problema que supone en las especies animales, es la elaboración de las sondas debido a su escasa disponibilidad en animales, aunque progresivamente se va consiguiendo un mayor conocimiento de los genomas. Por lo tanto para llevar a cabo esta técnica es necesario en primer lugar la creación de bancos genómicos, la separación de cromosomas mediante citometría de flujo y la posterior elaboración de sondas, o la microdissección cromosómica. Ésta última se ha aplicado en algunos trabajos en la especie porcina (Pinton, 2004a), y consiste en la microdissección de fragmentos cromosómicos, que incluso permite llegar a separar tan solo una banda, y su posterior amplificación por PCR. Las sondas posteriormente pueden hibridar con diferentes materiales, como los cromosomas metafásicos o prometafásicos, núcleos en interfase o espermatozoides (Sperm-FISH). La detección de las alteraciones en el núcleo en interfase tienen la ventaja de no requerir un cultivo celular previo con lo que acorta el tiempo, y supone una herramienta muy rápida. Posteriormente a la hibridación entre la secuencia

nucleotídica de la sonda y la secuencia complementaria en el cromosoma, se utilizan diferentes métodos de detección de la sonda mediante fluorescencia o inmunocitoquímica.

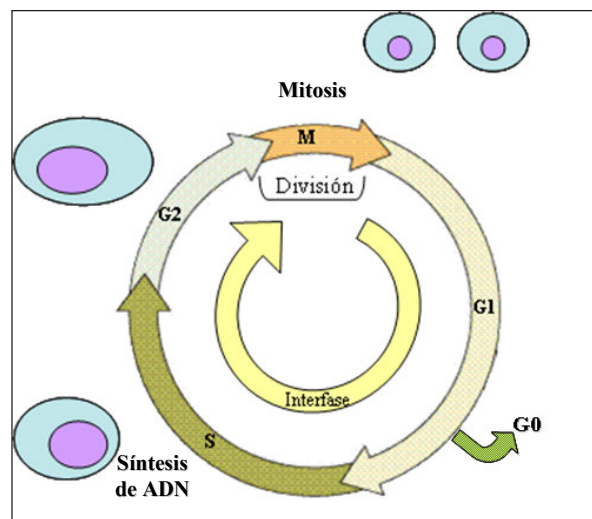
La FISH es una técnica dirigida a determinados cromosomas, por lo tanto es necesaria la información preliminar obtenida mediante técnicas de bandeo cromosómico. Se plantea por lo tanto como una técnica complementaria a la citogenética clásica (Pinton, 1998).

El desarrollo del cariotipo en 20 colores (M-FISH, SKY-FISH) con el uso de numerosas sondas, no requiere de información previa. Pero esta técnica, ya utilizada ampliamente en humanos, todavía debe desarrollarse para la especie porcina. El número de sondas disponibles debe aumentar, así como ayudará el mapeo genético completo del genoma porcino.

2.3 El ciclo y la división celular

El ciclo de una célula está dividido principalmente en dos etapas: la fase M o división celular propiamente dicha (mitosis o meiosis), y la interfase etapa en que las células se preparan para la siguiente división duplicando su material genético (ADN). La interfase a su vez comprende tres etapas, fase G1, fase S, y fase G2 (Figura 6).

Figura 6: Ciclo celular



Durante la fase G1 las células tienen una dotación cromosómica diploide ($2n$), y vuelven a activar sus rutas biosintéticas que se han reducido mucho durante las mitosis. La fase S comienza con la síntesis de DNA y termina cuando el contenido de DNA del núcleo se ha duplicado, y los cromosomas están formados entonces por dos cromátidas hermanas. Después de la fase S la célula pasa a la fase G2 en la que se inicia la condensación gradual de la cromatina, proceso que se finalizará en las primeras etapas de la mitosis o meiosis. A veces las células pasan a una etapa quiescente, desde la G1, en que permanecen días incluso años hasta emprender un nuevo ciclo y que se denomina fase G0.

La división celular es el proceso mediante el cual se generan tanto los gametos por la división meiótica, como a partir del cigoto todas las células del organismo por división mitótica.

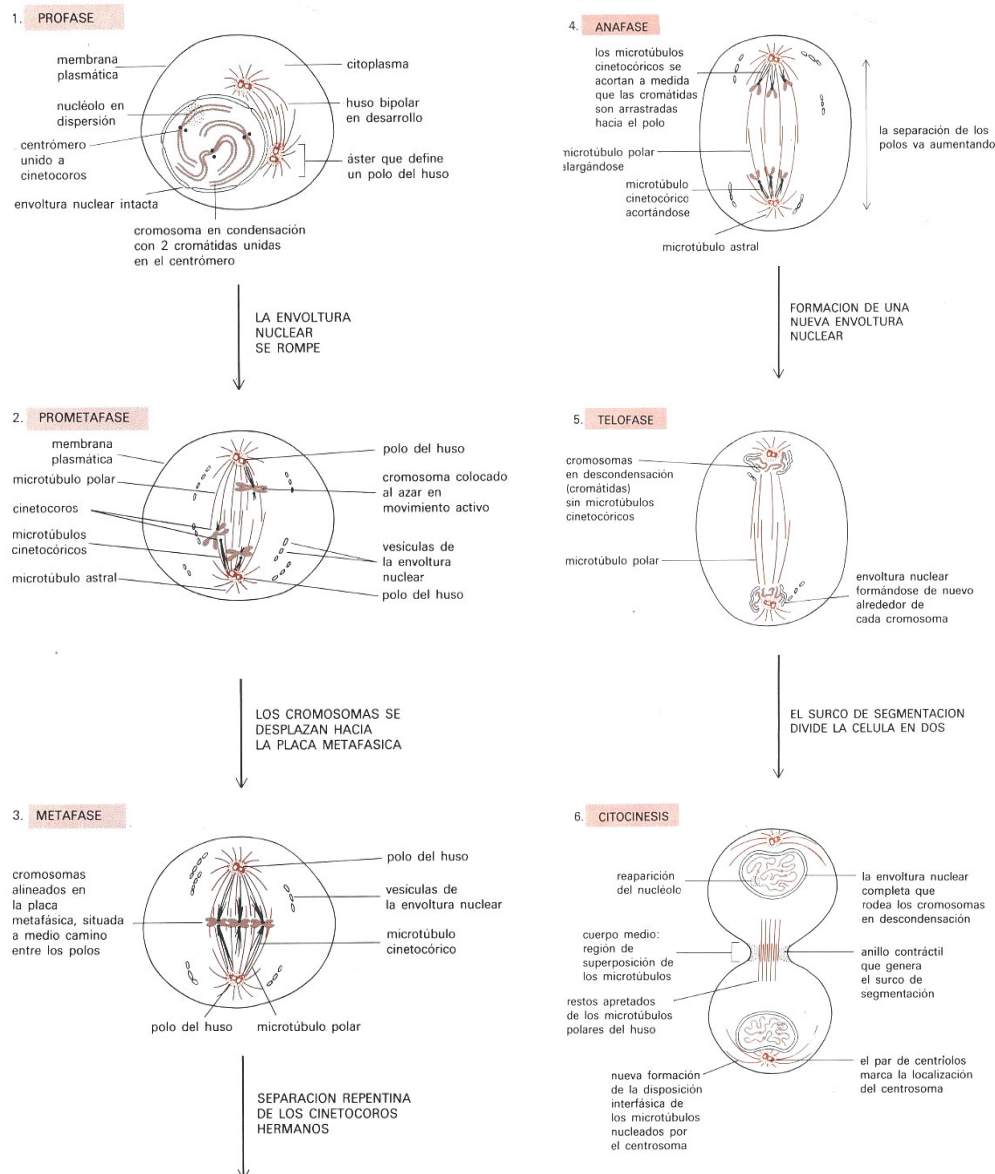
2.3.1 La mitosis

La mitosis o fase M es el periodo más corto del ciclo celular, en el que tiene lugar la división de la célula que previamente ha duplicado su material genético en la fase S. El proceso de división celular es notablemente constante entre los organismos eucariotas. Se divide en cinco etapas consecutivas seguidas de la citocinesis (Figura 7):

1. Profase: en esta etapa se da la condensación de la cromatina que se encuentra difusa y se forman así los cromosomas. Estos ya poseen dos cromátidas hermanas puesto que durante la fase previa S ha tenido lugar la replicación. A su vez se empieza a formar el huso mitótico y desaparecen los nucleolos.
2. Prometáfase: esta etapa se inicia con la desintegración de la membrana nuclear. El huso mitótico puede entrar en la región nuclear. En los centrómeros de los cromosomas se forman los complejos proteicos especializados llamados cinetocoros responsables de la unión del cromosoma al huso mitótico. Se empiezan a distinguir las dos cromátidas de los cromosomas y éstos empiezan a migrar hacia el plano ecuatorial.
3. Metafase: los cinetocoros formados se encargan de alinear los cromosomas, totalmente condensados, en la llamada placa metafásica.

4. Anafase: los cinetocoros apareados de cada cromosoma se separan, y cada cromátida migra a un polo opuesto del huso mitótico.
5. Telofase: en esta etapa las cromátidas han llegado ya a los polos y se vuelve a formar la envoltura nuclear. La cromatina se descondensa de nuevo y la mitosis finaliza.

Figura 7: Etapas de la mitosis celular (adaptado de Alberts *et al.* 1994).



La citocinesis se inicia en la etapa de anafase de la mitosis y continúa hasta el final del ciclo celular, y consiste en la división del citoplasma mediante un proceso denominado segmentación.

La metafase es una etapa relativamente estable de la mitosis en la cual parece ser que las células se pueden detener momentáneamente hasta que todos los cromosomas se alinean en la placa metafásica. Mediante el uso de drogas antimitóticas como la colchicina o vinblastina, se consigue detener la división en esa etapa debido a que provocan la despolimerización de los microtúbulos. Este método de bloqueo celular se utiliza para obtener grandes cantidades de células en la etapa de metafase, con los cromosomas completamente condensados, y permitir así la realización del análisis citogenético.

2.3.2 La meiosis

La división meiótica es el proceso de división celular por el cual la dotación cromosómica se reduce a la mitad. Cada núcleo diploide contiene dos versiones semejantes de cada cromosoma (homólogos), una de las cuales proviene del padre y otra de la madre. La gametogénesis, proceso de formación de los gametos, es precisamente un proceso de división meiótica. El resultado es la formación de gametos haploides que contienen un solo miembro de cada uno de los pares de cromosomas homólogos, previo apareamiento y recombinación entre ellos.

La meiosis consta de dos divisiones sucesivas (primera y segunda división meiótica) a partir de una sola replicación del ADN (fase S). En la primera división se separan los cromosomas homólogos a dos células hijas, y en la segunda se produce la segregación de las cromátidas hermanas, de manera análoga a la división mitótica, formándose así los gametos haploides. Las etapas de la meiosis son las siguientes:

División I de la meiosis:

1. Profase I: los cromosomas homólogos se aparean y se produce la recombinación meiótica. Esta etapa se subdivide en cinco estadios (Figura 8):

Leptoteno: en esta etapa se observan los cromosomas formados por dos cromátidas unidas por el centrómero. Cada cromosoma se encuentra unido por sus extremos a la envoltura nuclear por medio de una placa de unión.

Zigoteno: se produce el apareamiento o sinapsis entre los cromosomas homólogos mediante los denominados complejos sinaptonémicos. A cada par cromosómico formando esta estructura de apareamiento se le denomina bivalente.

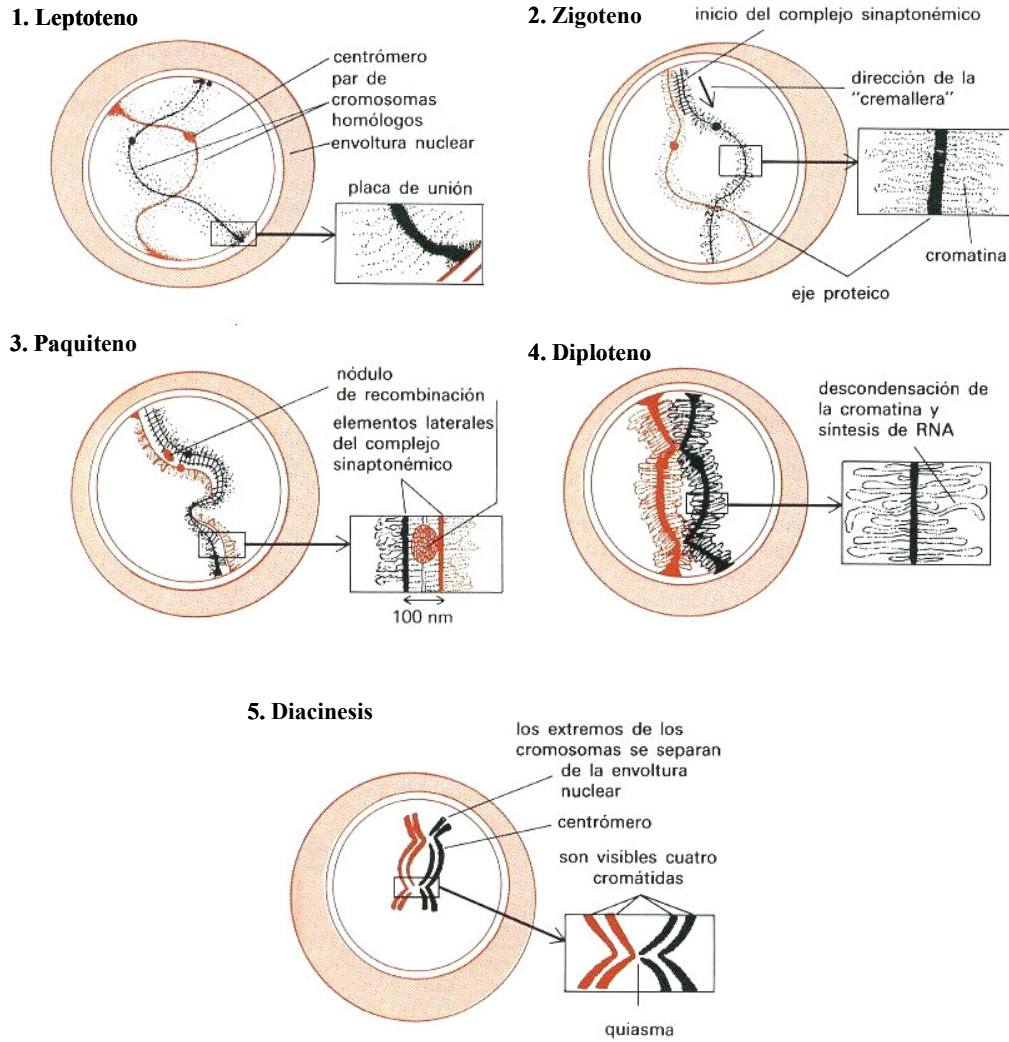
Paquiteno: en esta etapa aparecen los nódulos de recombinación intercalados en los complejos sinaptonémicos y que median los intercambios cromosómicos que se producen. Estos dan lugar a entrecruzamientos entre dos cromátidas no hermanas en las regiones denominadas quiasmas. Los quiasmas son indispensables para la correcta orientación de los cromosomas en el huso mitótico después de la metafase, y por lo tanto en la segregación de los cromosomas. Aquellas células con problemas de recombinación o de sinapsis, por ejemplo por la presencia de una alteración estructural cromosómica, no pueden proseguir la meiosis más allá de la etapa de paquiteno.

Diploteno: empieza la desinapsis desapareciendo en primer lugar el complejo sinaptonémico, pero permaneciendo los quiasmas, que representan los puntos de apareamiento.

Diacinesis: los cromosomas se descondensan y se separan de la envoltura nuclear, observándose las cuatro cromátidas de cada bivalente, y los quiasmas.

2. Metafase I: finalizada la etapa de la profase la envoltura nuclear desaparece y los microtúbulos se fijan a los cinetocoros de los cromosomas homólogos.
3. Anafase I: los centrómeros de cada bivalente migran hacia los polos opuestos.
4. Telofase I: el huso acromático se despolimeriza, localizándose en cada polo de la célula una dotación haploide de cromosomas, pero cada uno con las dos cromátidas hermanas.

Figura 8: Etapas de la profase I de la meiosis (adaptado de Alberts., *et al.* 1994).



División II de la meiosis: se trata de una división mitótica normal con la diferencia de que las células son haploides, y que las dos cromátidas de cada cromosoma son diferentes debido al proceso de recombinación. Está formada por las siguientes etapas:

1. Profase II: los cromosomas se condensan.
2. Metafase II: se forma el huso acromático y los cromosomas se disponen en la placa ecuatorial.
3. Anafase II: se produce la separación de las dos cromátidas hacia los polos opuestos.
4. Telofase II: se forman las envolturas nucleares alrededor de los cuatro núcleos haploides y desaparece el huso.

El resultado de la meiosis es la formación de 4 células haploides a partir de una célula diploide.

2.3.3 La gametogénesis

La gametogénesis es el proceso mediante el cual se generan las células sexuales o gametos con dotación cromosómica haploide. En la hembra se denomina ovogénesis y en el macho espermatogénesis. Ambos procesos se inician a partir de células germinales primordiales (gonocitos primordiales), que mediante sucesivas divisiones mitóticas dan lugar a las espermatogonias y ovogonias. Éstas a su vez mediante se dividen por mitosis dando lugar a los denominados ovocitos y espermátocitos primarios, que son las células que finalmente se dividirán mediante una meiosis. Después de la primera división meiótica se forman los ovocitos/espermátocitos secundarios que seguirán la segunda división meiótica dando lugar a los ovocitos/espermátidas que ya poseen una dotación cromosómica haploide.

En el caso concreto de la espermatogénesis, que tiene lugar en los túbulos seminíferos en los testículos, las espermátidas que resultan de la segunda división meiótica tienen que pasar una última etapa de maduración conocida como espermiogénesis mediante la cual se diferencian en espermatozoides. Esta última etapa permite al espermatozoide adquirir la capacidad de fecundación e incluye la condensación del material nuclear, la formación de la cola del espermatozoide y el desarrollo del acrosoma y de su contenido.

Durante esta fase de espermiogénesis la espermátida en diferenciación está insertada en las denominadas células de Sertoli, hasta el paso del espermatozoide al lumen del túbulo seminífero en el proceso denominado de espermiación. El recorrido del espermatozoide a través del epidídimo produce cambios bioquímicos en el espermatozoide que le capacitarán para fecundar.

La espermatogénesis por lo tanto se divide en dos procesos básicos:

- Espermatocitogénesis: etapa en la que se suceden las diferentes divisiones mitóticas y meióticas de las células.
- Espermiogénesis: etapa que se refiere a la fase de maduración.

El inicio del proceso de espermatogénesis empieza en la pubertad del individuo y es permanente. En el caso del verraco la espermatogénesis se ha calculado que tienen una duración de 25-26 días, y el transporte epididimario de unos 10-12 días (Swierstra, 1968).

La ovogénesis se desarrolla en los folículos situados en el ovario y difiere principalmente de la espermatogénesis en que tiene lugar desde la etapa de vida embrionaria. El número aproximado de folículos primordiales en la cerda es aproximadamente de 200.000 por ovario al nacimiento (Moor *et al.*, 1990). Los primeros estadios de la profase meiótica en la especie porcina se inician a los 40 días de gestación y la formación de los folículos primordiales (foliculogénesis) que recubrirán los ovocitos se forman sobre unos 20 días más tarde. La mayoría de estos folículos se forman en esos días pero otros se acaban de formar en los 15 días siguientes al nacimiento. Sin embargo a diferencia de la espermatogénesis, en la ovogénesis la meiosis se detiene en la etapa de paquiteno-diploteno de la profase, y no se reanuda hasta la pubertad estimulada por cambios a nivel hormonal entrando en la fase de maduración ovocitaria. Al finalizar la división meiótica I, el citoplasma se divide asimétricamente produciendo dos células que difieren en cuanto a tamaño: una pequeña denominada corpúsculo polar primario, y el denominado oocito secundario que será liberado del folículo ovárico durante la ovocitación. El folículo una vez ha ocurrido la ovocitación se transforma en una estructura endocrina denominada cuerpo lúteo que es reabsorbido en el caso de no producirse la fecundación. La división meiótica II se vuelve a interrumpir en la etapa de metafase II, y solo se reanuda como consecuencia de la fecundación del ovocito por un espermatozoide, momento en que se produce la liberación de un segundo corpúsculo polar. Ambos corpúsculos polares

generalmente degeneran, y por lo tanto a diferencia de la espermatogénesis, un ovocito primario solo genera un ovocito, mientras que un espermatocono primario produce cuatro espermatozoides. La duración total de la folículoogénesis en la cerda es de 103 días (Martinat-Botte *et al.*, 1996)

2.4 Las alteraciones cromosómicas

La constitución cromosómica, en cuanto a morfología y número de los cromosomas, es constante para cada especie y en todas las células del individuo. Sin embargo en algunos casos se pueden producir alteraciones, bien espontáneamente o bien inducidas por un agente mutágeno. Estas anomalías cromosómicas pueden afectar a todas las células del individuo (anomalías constitucionales), o pueden presentarse únicamente en algún órgano o tejido como es el caso de los tumores malignos (anomalías adquiridas).

2.4.1 Tipos de alteraciones cromosómicas

La clasificación principal de las alteraciones cromosómicas se realiza en función de si afectan al número o a la estructura de los cromosomas (alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales).

Las **alteraciones de tipo numérico** resultan por lo tanto de la pérdida o ganancia de cromosomas, produciéndose desequilibrio cromosómico en el cariotipo. Las causas de este tipo de variaciones pueden ser errores que se producen durante la meiosis en la gametogénesis, o errores durante las primeras divisiones mitóticas del embrión. En el primer caso el resultado son gametos que poseen cromosomas en exceso o defecto que después de la fecundación darán embriones con el cariotipo desequilibrado. En el segundo caso los individuos presentarán mosaicismo celular, es decir varias líneas celulares con diferente número de cromosomas. Existen dos tipos principales de alteraciones numéricas:

- a)** Las aneuploidías. Afectan únicamente a un par cromosómico y son producidas cuando los dos cromosomas homólogos migran al mismo polo (no disyunción). Si la no disyunción se produce en la primera o en la segunda división meiótica en la gametogénesis, se producen 4 gametos desequilibrados, ó 2 desequilibrados y dos

normales respectivamente, y los cigotos formados después de la fecundación serán trisómicos o monosómicos para ese cromosoma. Cuando la no disyunción de un par cromosómico se da en los cromosomas sexuales o gonosomas, se producen desequilibrios mucho menos perjudiciales, aunque siempre debe existir al menos un cromosoma X para que el embrión sea viable.

b) Las euploidías. Se trata de alteraciones que resultan de una variación del complemento cromosómico normal diploide. En este caso se denomina haploidía si el número de cromosomas es n , o poliploidías si la dotación es $3n$ o mayores (triploidía, tetraploidía..etc). Estas alteraciones suelen producirse durante la fecundación. Las más frecuentes en humanos son las triploidías, aunque habitualmente degeneran en abortos espontáneos. Los mecanismos para la formación de triploides son:

- Diginía, producidas por la no expulsión del segundo cuerpo polar después de la fecundación.
- Diandria, se originan cuando se produce fecundación de 1 ovocito por 2 espermatozoides. La diandria es 4 veces más frecuente que la diginia.

Sin embargo las tetraploidías son las causantes del 6% de los abortos en humanos, y suelen causar una muerte en etapas embrionarias muy tempranas.

Las **alteraciones de tipo estructural**, afectan a la estructura y morfología sin llegar a producir variaciones en el número de cromosomas. Se producen por una fragmentación en la estructura de un cromosoma y generalmente la posterior reconstitución de la molécula en una disposición diferente. La descripción de los diferentes tipos de alteraciones estructurales tiene en cuenta el número de puntos de rotura del cromosoma, y el carácter equilibrado o desequilibrado según se produzca pérdida o no de material cromosómico (Luque y Herráez, 2006). Los principales tipos de alteraciones cromosómicas estructurales son:

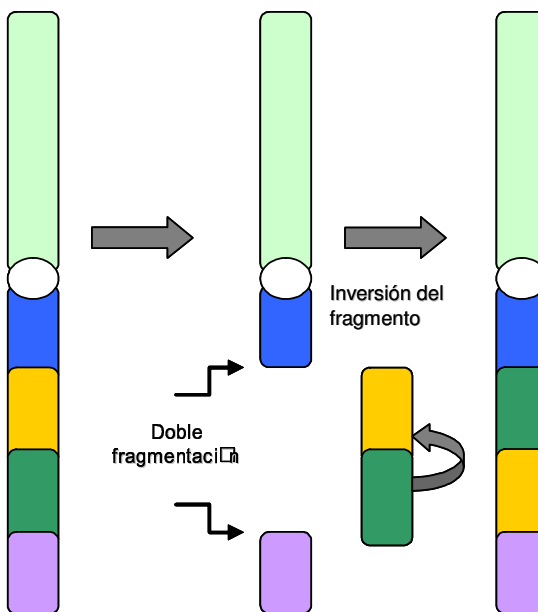
a) Deleciones: son el resultado de una fragmentación en el cromosoma por un único punto, y de la no unión de los extremos mediante enzimas de reparación. En consecuencia el segmento que no posee el centrómero normalmente se pierde en la siguiente división mitótica, causando una deleción terminal. Existe otro tipo de deleción denominada intersticial, que se produce mediante dos puntos de ruptura

en el cromosoma y la posterior unión entre extremos que no se corresponden, con la consecuente pérdida del segmento intersticial. En ambos casos se trata de una anomalía desequilibrada con pérdida de material genético.

b) Duplicaciones: se producen como consecuencia de la repetición de un segmento cromosómico de mayor o menor extensión. Esta duplicación puede ser seguida a la secuencia que se repite (en tándem o en tándem inverso), o desplazada de la secuencia que se repite. Las duplicaciones son alteraciones de tipo desequilibrado.

c) Inversiones: son causadas por la rotación del fragmento cromosómico con un giro de 180°C y su posterior inserción en el mismo lugar (Figura 9). Éstas pueden ser principalmente de dos tipos, paracéntricas o pericéntricas, según si el segmento fragmentado incluye o no el centrómero respectivamente. Se trata de una anomalía equilibrada.

Figura 9: Formación de una inversión pericéntrica.



Sin embargo, para que se pueda llevar a cabo la recombinación en el interior del fragmento invertido durante la meiosis, se debe formar un bucle que garantice la sinapsis entre los segmentos del cromosoma invertido con el homólogo normal.

Cuando el segmento invertido es de pequeño tamaño, por cuestiones físicas dicha recombinación no se puede dar produciéndose asinapsis, y por lo tanto sin generarse gametos desequilibrados. Pero si el fragmento es de gran tamaño, se pueden producir dos situaciones: la formación del bucle de inversión, y la no formación produciéndose una heterosinapsis o apareamiento heterólogo sin formación de gametos desequilibrados. Por lo tanto únicamente en el caso de que exista recombinación se forman gametos desequilibrados. Éstos, en el caso de las inversiones pericéntricas tienen diversas duplicaciones o deleciones que son más o menos letales en función de su longitud, y en el caso de las paracéntricas los gametos formados son de cuatro tipos: normales, portadores de la inversión equilibrada, y 2 tipos de gametos desequilibrados que suelen ser letales debido a la formación de un fragmento dicéntrico y uno acéntrico.

d) Translocaciones: se producen cuando los dos puntos de ruptura se dan en cromosomas no homólogos, y los segmentos cromosómicos resultantes cambian de posición. Los cromosomas se denominan entonces derivados o híbridos. A su vez las translocaciones pueden ser recíprocas cuando se intercambian segmentos de dos cromosomas, o Robertsonianas (fusiones céntricas) cuando se fusionan dos cromosomas acrocéntricos. Este tipo de alteraciones son las más frecuentes en humanos con una incidencia de un 0.178%, un 0.092% correspondiente a las translocaciones recíprocas y un 0.086% a las translocaciones Robertsonianas (De Braekeleer y Dao, 1991).

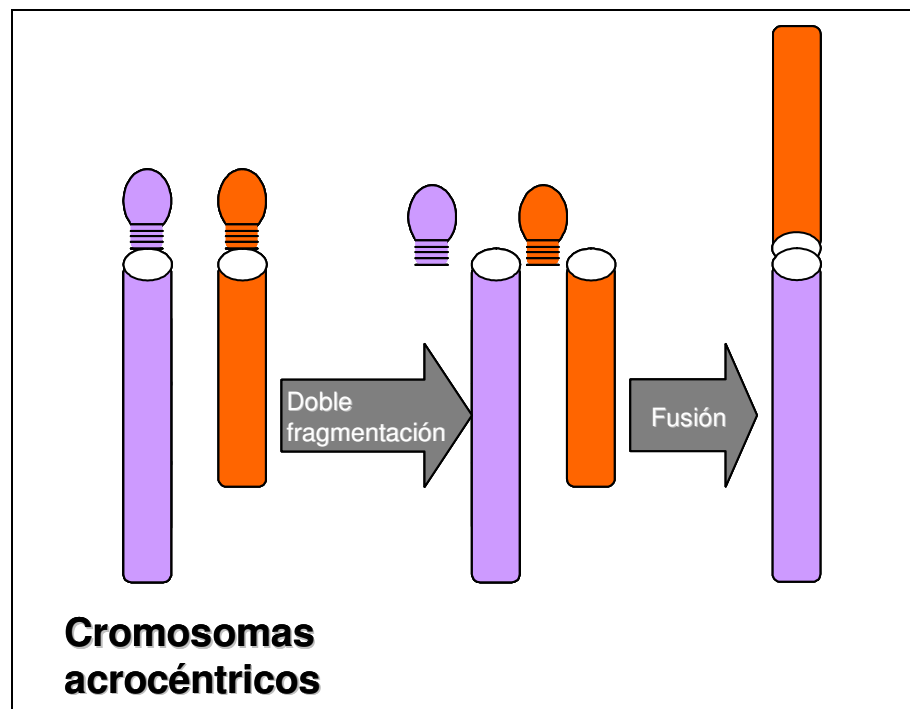
Las **translocaciones Robertsonianas** se denominan así porque la primera fue identificada por Robertson en 1916, y resultan de la fusión de dos cromosomas acrocéntricos no homólogos a nivel del centrómero, formando un cromosoma meta o submetacéntrico (Figura 10). Los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos se suelen perder en las siguientes divisiones celulares, pero en humanos se ha observado como son susceptibles de aparearse con el par cromosómico sexual produciendo casos de esterilidad en hombres al interferir en la inactivación del cromosoma X. El cariotipo de los animales portadores de estas alteraciones tiene un cromosoma menos. El fenotipo del animal portador suele ser normal, sin embargo el problema se produce durante la meiosis. Para que se pueda

producir la recombinación se debe formar una configuración en trivalente entre el cromosoma translocado y los homólogos normales. Como consecuencia en la segregación meiótica (tipo 2:1) se pueden generar diferentes tipos de gametos:

- Si el trivalente migra hacia un polo y los cromosomas normales hacia el polo opuesto (segregación alterna), se forman gametos equilibrados y normales respectivamente.
- Si un cromosoma normal migra con el trivalente a un polo y el otro cromosoma normal al polo opuesto (segregación adyacente) se forman gametos desequilibrados, disómicos para un cromosoma y nulisómicos para el otro, y por lo tanto en muchos casos letales.

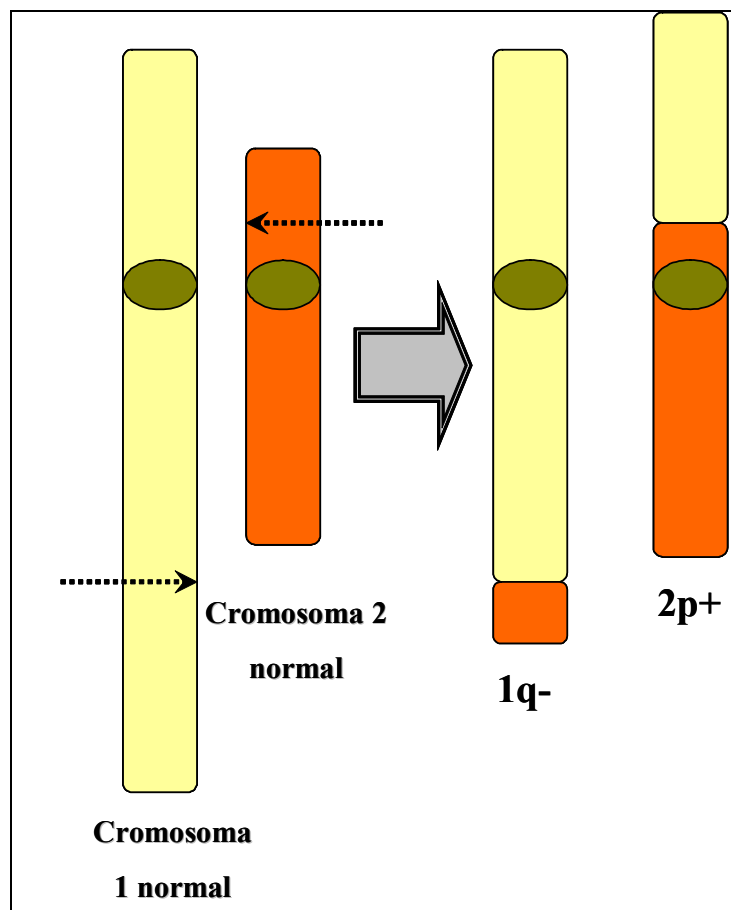
Las translocaciones Robertsonianas son las más abundantes en la especie bovina, especialmente la translocación 1/29 (Gustavsson, 1969) que incluso en diferentes poblaciones ha sido sometida a un control para conseguir su erradicación.

Figura 10: Formación de una translocación Robertsoniana.



Las translocaciones recíprocas tal y como se ha indicado anteriormente implican un intercambio de segmentos cromosómicos entre dos cromosomas (Figura 11). Es una anomalía de tipo equilibrado porque no existe pérdida de material genético. No suelen tener repercusión a nivel fenotípico, pero sin embargo su presencia se asocia con un riesgo elevado de producción de gametos desequilibrados y la aparición de problemas reproductivos y en la descendencia.

Figura 11: Representación esquemática de una translocación recíproca entre los cromosomas 1 y 2 del cerdo $rcp(1q-;2p+)$.



Las flechas indican los lugares de fragmentación.

2.4.2 Nomenclatura estándar de las alteraciones cromosómicas

La nomenclatura estándar internacional utilizada para designar todas estas alteraciones así como los diferentes términos citogenéticos se reflejan en la Tabla 3.

Tabla 3: Códigos de la Nomenclatura Citogenética Standard Internacional.

Abreviatura	Significado
p	brazo corto
q	brazo largo
cen	centrómero
ter	extremo terminal (telómero)
del	deleción
ins	inserción
dup	duplicación
inv	inversión
t	translocación
rcp	translocación recíproca
rob	translocación de Robertson
/	mosaicismo
der	cromosoma derivado
+	ganancia
-	pérdida

La nomenclatura de las translocaciones en concreto, se realiza haciendo referencia al número de cromosoma y al brazo implicado en el intercambio, acompañado de un símbolo +/- según haya perdido o ganado un fragmento de un brazo. Con la introducción de las técnicas de bandeado cromosómico se incluyó en la nomenclatura la numeración de las bandas dónde se producía la fragmentación, por ejemplo en la translocación rcp(12;14)(q13;q15) se produce el corte entre las bandas 1.3 del cromosoma 12 y la 1.5 del 14.

2.5 Alteraciones cromosómicas en porcino

Durante los años 60 se pusieron de manifiesto las primeras alteraciones cromosómicas en especies de animales domésticos, especialmente en la especie porcina y bovina. Sin embargo no fue hasta finales de la década de los 80 cuando la citogenética animal tuvo su mayor desarrollo. Actualmente la investigación en este campo está concentrada en unos pocos laboratorios, de los cuales la mayoría (10-15) se encuentran en Europa.

En general las alteraciones cromosómicas en las que se producen pérdidas de cromosomas o de segmentos cromosómicos, son inviables y provocan pérdidas embrionarias o durante el desarrollo del feto. Sin embargo muchas alteraciones cromosómicas estructurales aunque no se manifiesten fenotípicamente, provocan en los animales portadores problemas de fertilidad o incluso esterilidad total (Therman y Susman, 1993). En las especies politocas como el cerdo el efecto más acusado se produce sobre el tamaño de la camada.

Todavía existe un gran desconocimiento de la incidencia real de las alteraciones cromosómicas en muchas especies de animales domésticas, así como de las consecuencias exactas que tienen sobre la reproducción. El cerdo es una de las especies en las que se han realizado una mayor cantidad de estudios, y la única a parte de la humana, en la que existe actualmente una estimación de la incidencia de las alteraciones cromosómicas de tipo estructural.

Hoy en día los estudios citogenéticos en animales son una herramienta útil como elemento de diagnóstico, que permiten evitar precozmente la aparición de importantes

problemas reproductivos debidos a la presencia de alteraciones cromosómicas en el animal. El desarrollo de estas técnicas ha ido acompañado de importantes avances en el establecimiento de los cariotipos estándar de las diferentes especies, además del desarrollo de técnicas que permiten estudiar el comportamiento cromosómico durante la meiosis en animales portadores de alteraciones cromosómicas estructurales, y de los estudios comparativos de fragilidad del genoma entre diferentes especies animales.

2.5.1 Alteraciones cromosómicas numéricas

En porcino la incidencia de alteraciones que afectan al número de cromosomas es menor que la de las alteraciones estructurales, sin embargo se ha observado que es mayor que en otras especies como en ratas o en ratón.

La mayor parte de trabajos que han analizado la incidencia de aparición de alteraciones cromosómicas numéricas en porcino han sido a partir de estudios de fecundación *in vitro*. A pesar de las mejoras obtenidas en esta técnica, el éxito obtenido en la transferencia posterior de los embriones es todavía escaso (aproximadamente de un 40%). Esta baja eficacia parece estar relacionada con una aparición elevada de alteraciones cromosómicas, la mayoría de las cuales son de tipo poliploidías o aneuploidías. Estas alteraciones causan una mortalidad embrionaria precoz, y por lo tanto abortos espontáneos. En humanos la incidencia de aberraciones cromosómicas en embriones producidos *in vitro* se estima entre un 35 a 44% (Van Blerkom, 1994). En embriones de porcino producidos *in vitro* se ha determinado en varios estudios citogenéticos que la frecuencia de alteraciones cromosómicas es del 6% en embriones de 3-4 días (Van der Hoeven *et al.*, 1985), del 10% en los de 10 días (McFeely *et al.*, 1967), del 26,7% en los de 11 días (Moon, *et al.*, 1975) y del 1,3% en los de 25 días (Smith *et al.*, 1971). Estudios más recientes (McCauley *et al.*, 2003) han estimado una proporción aún mayor, de un 39% en blastocistos de 6 días producidos *in vitro* con proporciones de un 9,3% haploides, un 71,7 % poliploides (triploides un 56.5% y tetraploides un 27.5%) y un 19,6% mixoploides (2n/3n los mayoritarios con un 36.8%).

La causa de la aparición de estas alteraciones se atribuye en un 25% a errores durante la meiosis de la gametogénesis, y el resto de casos son causados por anomalías durante la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (King, 1990). En general se ha

comprobado que la frecuencia de gametos con anomalías cromosómicas es más elevada en los ovocitos que en los espermatozoides (Martin, 1984; Plachot, 1995; Martini, 1997; Rubes, *et al.*, 1999).

Uno de los inconvenientes en el estudio del cariotipo de embriones, son las limitaciones de la técnica convencional a la hora de obtener cromosomas alargados y fáciles de bandear. En este sentido la aplicación de metodologías como la FISH ha permitido estimar mejor la frecuencia de los diferentes tipos celulares (Dyban *et al.*, 1996; Slimane *et al.*, 2000; Vozdova *et al.*, 2001).

A pesar de este elevado número de anomalías cromosómicas numéricas identificadas como consecuencia de las técnicas de fecundación *in vitro*, no existen prácticamente anomalías numéricas autosómicas identificadas en porcino en animales adultos. Únicamente se ha observado algún caso de mosaicismo, tratándose de trisomías de los cromosomas 14 y 18 (Gustavsson, I., 1990), y dos casos de trisomías en el cromosoma 18 en verracos de raza Landrace y Pietrain respectivamente (Pinton, 2004). En ninguno de los dos casos se obtuvieron datos reproductivos.

Los casos de anomalías numéricas que afectan a los cromosomas sexuales descritos en porcino son también escasos. Únicamente se han identificado el síndrome de Klinefelter en verracos (XXY), y el de Turner en hembras (X0). En el primer caso se han identificado casos de verracos estériles (azoospermia), que presentaban hipoplasia o atrofia testicular (Breeuwsma, 1968; Hancock y Daker, 1981; Mäkinen *et al.*, 1998) y otro caso que se trataba de un macho con libido normal, pero también con azoospermia e hipoplasia testicular (Mäkinen *et al.*, 1998). El síndrome de Turner ha sido identificado en hembras que no presentaban órganos genitales (Nes, 1969)

Además existe en porcino algún caso descrito de mosaicismo celular con anomalías numéricas en los cromosomas sexuales, como muestra un trabajo de Quilter *et al.*, (2003), en el que detectaron la presencia de un mosaicismo X/XY/XYY en un verraco que presentaba disminución de la fertilidad.

Otros casos de anomalías cromosómicas en porcino implicando a los cromosomas sexuales, pero no de tipo numérico, son los mosaicismos de células XX y células XY en el mismo animal. Este tipo de alteración va asociada a una intersexualidad, presentando el animal habitualmente genitales masculinos y femeninos (MaFee, *et al.*, 1966; Bruere, *et al.*,

1968; Vogt, 1968; Somlev *et al.*, 1970; Christensen y Nielsen, 1980; Clarksson, *et al.*, 1995; Rodríguez, *et al.*, 2008).

2.5.2 Alteraciones cromosómicas estructurales

Como se ha citado anteriormente la especie porcina junto con la humana, son las únicas especies dónde existe una estimación de la incidencia de alteraciones cromosómicas estructurales en la población. Hasta la actualidad se han identificado algo más de 150 anomalías cromosómicas estructurales diferentes en la especie porcina (Anexo), y su incidencia se ha estimado recientemente en un 0,47% (Ducos, 2007), porcentaje similar al que se estima en humanos al nacimiento (0.43%, McKinlay, 2004). Es decir actualmente se estima que uno de cada 200 animales analizados presenta alguna alteración cromosómica estructural.

La mayoría de estas alteraciones son translocaciones cromosómicas recíprocas, sin embargo existen también algunos casos descritos de translocaciones Robertsonianas, y en los últimos años se ha incrementado el número de inversiones identificadas.

2.5.2.1 Translocaciones Robertsonianas

El número de translocaciones robertsonianas que se han descrito hasta la actualidad en porcino es escaso, en comparación con la elevada incidencia de casos que se dan por ejemplo en bovino. En el Anexo se reflejan todas las translocaciones robertsonianas identificadas en porcino. En total, de las 9 descritas hasta la actualidad, todas implican una fusión entre los cromosomas 13 y 17, a excepción de tres: una fusión céntrica entre el cromosoma 16 y el 17, una entre el 14 y 15 y otra entre el 14 y el 17. El cromosoma 18, el autosoma de menor tamaño del cariotipo porcino, es el único que no se ha visto involucrado en ninguna translocación robertsoniana de las identificadas hasta la actualidad.

Recientemente Pinton *et al.*, (2008) han realizado el primer análisis de segregación meiótica en porcino en animales con una translocación robertsoniana. Los animales eran portadores de la translocación rob(13;17) y fenotípicamente normales. En el caso de los machos se observó que el porcentaje de espermatozoides desequilibrados producidos era relativamente bajo (3,29%). Sin embargo las hembras presentaron un porcentaje de ovocitos

con desequilibrio cromosómico mayor (19,18%), coincidiendo con la bibliografía existente en otras especies, y sugiriendo que el impacto de este tipo de translocaciones sobre la reproducción de las hembras es mayor que en los machos. La falta de datos reproductivos de estos animales no permitió demostrar el efecto real sobre la fertilidad o prolificidad.

En ninguna de las translocaciones robertsonianas identificadas hasta la actualidad en porcino se ha descrito el efecto de la presencia de la alteración sobre los parámetros reproductivos. En humanos la presencia de una translocación de este tipo en estado heterocigoto, si que se ha relacionado con problemas de fertilidad, debido a la formación de un 3 a un 60% de gametos desequilibrados en la meiosis (Roux *et al.*, 2005). Por lo tanto, y según el estudio de Pinton *et al.*, (2008), parece probable que este tipo de anomalías cromosómicas también pueda repercutir sobre la reproducción en la especie porcina, hecho que deberá ser comprobado en nuevas translocaciones robertsonianas que puedan ser identificadas.

2.5.2.2 Inversiones

El número de inversiones descritas en porcino es mayor que el de translocaciones robertsonianas, a excepción de la primera identificada en el cromosoma 8 por Switonski en 1991, el resto se han identificado tan solo en los últimos 15 años (Anexo). De las 15 inversiones descritas hasta la actualidad 10 son pericéntricas y 5 paracéntricas. Únicamente en dos inversiones se han observado efectos sobre la reproducción: un caso detectado en un animal con intersexualidad (Pinton *et al.*, 2002), y otro caso de un verraco observado con hipoprolificidad (Pinton *et al.*, 2000) pero del que no se consiguieron datos reproductivos y por lo tanto el efecto de la inversión no se pudo valorar. Además tampoco se han descrito repercusiones de estas anomalías a nivel fenotípico. Recientemente Massip, *et al.* (2008), han realizado los primeros estudios de segregación meiótica en semen en tres inversiones identificadas en la especie porcina, mediante la técnica de SpermFISH, encontrando que el porcentaje de gametos con desequilibrio cromosómico estaba correlacionado con el tamaño del fragmento invertido. Estos resultados coinciden con lo que sucede en humanos.

Estudios recientes de este tipo de alteraciones en humanos sí han demostrado tener algunos efectos negativos sobre la reproducción, debido a la producción de un pequeño porcentaje de gametos cromosómicamente desequilibrados (Antón, *et al.*, 2005). Se ha

observado que la formación de ese tipo de gametos depende de la longitud del fragmento cromosómico invertido (Ashley, 1988; Gabriel-Robez *et al.*, 1994). Las inversiones de fragmentos menores al 30% de la longitud del cromosoma y la fragmentación en bandas G positivas, son algunos de los factores que se han asociado a un reducido riesgo de producción de gametos desequilibrados, y por lo tanto de reducción de la fertilidad (Martin *et al.*, 1994). Esto es debido a la imposibilidad física de la formación del bucle en el fragmento invertido, y por lo tanto al no producirse recombinación no se forman estos gametos en desequilibrio cromosómico.

El hecho de que hasta la actualidad en la especie porcina no se hayan observado como en humanos mayores efectos de las inversiones sobre la reproducción, podría deberse a las escasas y relativamente recientes identificaciones de animales portadores de inversiones, siendo necesarios estudios de segregación meiótica y de datos reproductivos de nuevos casos que pudieran identificarse en el futuro.

2.6 Las translocaciones cromosómicas recíprocas en la especie porcina

La primera translocación cromosómica recíproca que se identificó en porcino fue en 1964 por Henricson y Bäckström en un verraco que presentaba una reducción de la prolificidad del 56%, aunque no presentaba alteraciones en la calidad espermática. Seis años después, al analizar el cariotipo de un lechón de raza Landrace nacido muerto con diferentes malformaciones, se describió la segunda translocación cromosómica recíproca. En este caso se trataba de un mosaicismo celular, observándose células con cariotipo normal y otras con una translocación recíproca entre los cromosomas 1 y 11, que en ese momento tenían otra nomenclatura puesto que aún no se había establecido la nomenclatura estándar actual (Hansen-Melander y Melander, 1970). La introducción a partir de 1970 de los bandeos cromosómicos permitió mejorar la identificación de los cromosomas, aunque en esa década tan solo se identificaron 6 nuevas translocaciones, la mayoría de ellas en verracos con problemas de hipoprolificidad. A partir de los años 80, y especialmente a partir de finales de esa década coincidiendo con el establecimiento del cariotipo estándar del cerdo (Gustavsson, 1988a), así como de otras especies (DiBerardino *et al.*, 1990), se identificaron numerosas translocaciones en porcino la gran mayoría de ellas por los equipos de Gustavsson, I. en

Suecia, Popescu, C.P. en Francia y Mäkinen A. en Finlandia. En todos los casos la identificación de la alteración fue consecuencia de la detección de animales con problemas reproductivos importantes, sobretudo la reducción del tamaño de camada. Con todos los casos que fueron apareciendo, se empezó a constatar la elevada incidencia de estas alteraciones en el cerdo en comparación con el resto de especies de animales domésticos. Gracias a los trabajos de estos equipos los análisis citogenéticos en porcino empezaron a recibir un gran impulso, debido a la relación que se observaba entre ciertos problemas reproductivos y la incidencia de anomalías cromosómicas.

Más de la mitad de los casos de translocaciones identificadas en la década de los 90 se llevó a cabo por el grupo de Ducos, A. (Francia), además de otros autores que publicaron varias como Villagomez D.A.F. y Mäkinen, A. (Finlandia). Desde el año 2000, todas las translocaciones identificadas han sido publicadas por el grupo francés (*Unité Mixte de Recherche* INRA / ENVT 898) por Ducos, A. y Pinton, A., (Ducos *et al.*, 2007). Esto ha sido consecuencia de la existencia de un programa de control citogenético en las poblaciones porcinas de ese país, del que ya se tiene constancia en 1984 (Popescu *et al.*, 1984). Inicialmente, mediante los datos facilitados por programas a nivel nacional de control de reproductoras se realizaba la detección de animales hipoprolíficos sospechosos de presentar alteraciones cromosómicas y se procedía a su análisis citogenético. En la actualidad, se ha conseguido el control de todos los verracos antes su entrada en servicio en centros de inseminación. El objetivo principal del control de esos animales, se ha basado en la enorme trascendencia que los verracos de centros de inseminación tienen a nivel reproductivo, debido a la inseminación de un gran número de hembras con dosis seminales de un mismo verraco. Además en la actualidad también se están controlando los resultados reproductivos de hembras, con el fin de poder detectar y eliminar posibles portadoras de alteraciones cromosómicas. Otros países sobretudo de Europa, también están controlando la incidencia de estas alteraciones en su cabaña porcina de reproductores, y cabe esperar la aplicación de estos programas de control en varios países en los próximos años, debido a la incidencia creciente de anomalías cromosómicas en porcino que se ha demostrado en los últimos años.

Diversos autores han realizado revisiones bibliográficas exhaustivas de las translocaciones recíprocas que se han ido identificando en porcino (Popescu y Legault, 1988; Long, 1991; Guillemot, 1995; Ducos *et al.*, 1997; Ducos *et al.*, 2000; Ducos *et al.*,

2002b; Pinton, 2004a). Hasta la actualidad (2007) se han identificado 139 translocaciones recíprocas (Anexo). En todos los cromosomas del cariotipo porcino se ha detectado alguna translocación, incluidos los cromosomas sexuales X e Y (en este último cromosoma se ha identificado solamente una). El cromosoma 18 es el autosoma con menos translocaciones descritas, tan solo 4, siendo los más afectados los cromosomas 14, 1, 15 y el 7. Existe únicamente 1 caso descrito de dos translocaciones recíprocas que se dan simultáneamente en 1 mismo animal (Ducos *et al.*, 1997).

En casi todas las razas porcinas de interés comercial se ha identificado alguna translocación recíproca: Landrace, Large White, Duroc, Pietrain, Yorkshire, etc. Si bien en algunas se han realizado una mayor cantidad de análisis citogenéticos y por lo tanto hay una mayor nº de identificaciones. Parece que no existen indicios de que las translocaciones puedan afectar más a unas razas que a otras.

El origen de la aparición de una translocación recíproca en una animal es muchas veces incierto. Gustavsson y Jönsson (1992) apuntaban a que la mayoría de las translocaciones tenían una aparición *de novo*. De hecho, el problema en la mayoría de identificaciones de animales portadores de translocaciones, reside en que los progenitores ya han sido sacrificados en el momento de la detección, sin poderse comprobar si están libres de alteraciones cromosómicas, y por lo tanto es imposible conocer el origen de la anomalía. Este problema se ha solventado habitualmente analizando hermanos de camada del animal portador, deduciendo un origen paternal cuando éstos también la presentan (Ducos *et al.*, 2002a).

2.6.1 Incidencia de alteraciones cromosómicas de tipo estructural en las especie porcina

Actualmente y según los resultados más recientes (Ducos *et al.*, 2007) la estimación de la incidencia de las anomalías cromosómicas estructurales en porcino es de 0,47%, obtenida a partir del análisis de 7700 verracos jóvenes antes de ser utilizados como reproductores. Es la única especie animal además de la especie humana dónde se dispone de esta estimación.

Históricamente se han ido realizando diversas estimaciones de la incidencia de las alteraciones cromosómicas estructurales en la especie porcina, a medida que se han ido controlando poblaciones, y por lo tanto la cantidad de análisis realizados aumentaba. Una de las primeras aproximaciones sobre la frecuencia de las anomalías cromosómicas en las poblaciones porcinas la dieron Popescu y Boscher (1986) y Legault y Popescu (1993) en Francia, haciendo una estimación de 1/1500: sin embargo ya apuntaban que si se analizaban únicamente machos que presentaban problemas de hipoprolificidad, la probabilidad de que fueran portadores de translocaciones recíprocas era de entre un 40-75%.

Esta estimación era algo imprecisa debido a una muestra estudiada demasiado pequeña, que con el tiempo fue aumentando al incrementar el número de análisis realizados. Desde 1991 a 1999 gracias a la participación de organizaciones de selección porcina de Francia, el número de análisis realizados en ese país se incrementó considerablemente hasta llegar unos 700 análisis/año (Ducos *et al.*, 2000), siendo estos análisis de animales que ya presentaban problemas reproductivos. Ya en 1997, Ducos *et al.* observaron que la incidencia propuesta por Legault y Popescu (1993) podía estar subestimada, al comprobar que en una muestra de 450 animales de varios centros de inseminación y animales de organizaciones de selección genética la incidencia estimada era de 0.05%. Además comprobaron que el 50% de los verracos hipoprolíficos analizados resultaron ser portadores de una translocación recíproca.

La participación de los técnicos de las empresas porcinas en la detección de animales hipoprolíficos es fundamental a la hora de decidir si los problemas de prolificidad observados pueden deberse a los múltiples factores que afectan a dicho parámetro, o si puede tratarse de animales sospechosos de presentar alteraciones cromosómicas. Por ejemplo Ducos *et al.* (2000) determinaron que si los animales sospechosos eran detectados por profesionales, en vez de con programas de gestión de las explotaciones, la proporción de animales portadores de anomalías cromosómicas sobre el número de animales analizados era superior al 70%.

El número de animales controlados en Francia fue aumentando, y ya en 2002 era de 900 a 1000 verracos analizados antes de su entrada en servicio en centros de inseminación. Ducos *et al.* (2002b) estimaron que sobre una muestra de 3200 verracos candidatos a reproductores y fenotípicamente normales, la incidencia de anomalías cromosómicas

estructurales era de un 0,4%, y de un 0.25% para las translocaciones recíprocas (Ducos *et al.*, 2002b). Como se observa con los datos actualizados de 2007 indicados anteriormente, esta incidencia ha aumentado de nuevo en los últimos 5 años, y es de esperar que se pueda modificar ligeramente con el control citogenético de poblaciones porcinas en otros países.

2.6.2 Fragilidad del genoma porcino

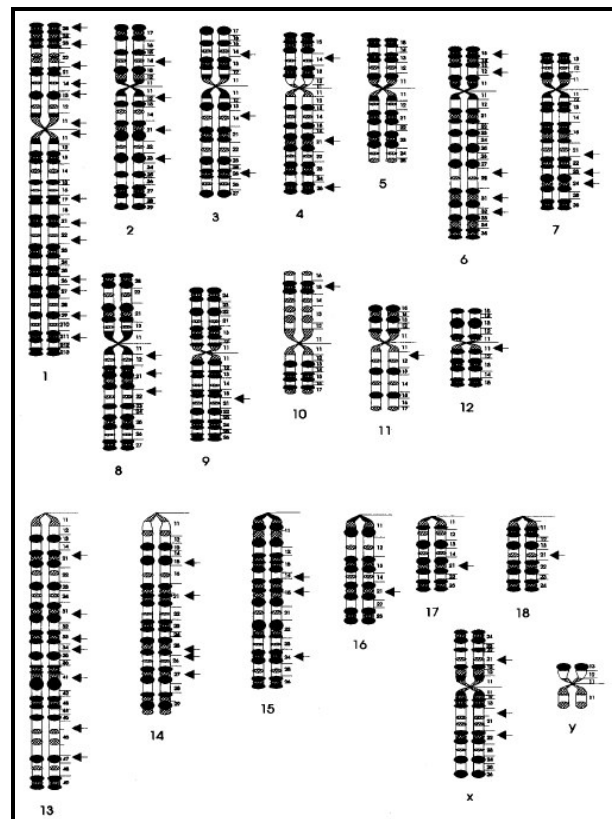
Las especies de animales domésticos están expuestas a numerosos agentes genotóxicos (Lodja, 1989) que pueden causar mutaciones y daños en el ADN. Sin embargo se ha demostrado que en los cromosomas existen algunas regiones que parecen ser más frágiles que otras (Yunis *et al.* 1987), y se denominan lugares frágiles. La localización de estas regiones en el genoma se realiza mediante la inducción experimental de mutaciones con agentes mutágenos como algunos inhibidores de la DNA polimerasa o la exposición a radiaciones entre otros.

El número de lugares frágiles identificados en porcino parece ser más elevado que en otras especies animales (Long, 1991), sin embargo los estudios existentes en otras especies son escasos. Comparando los resultados con los que se conocen en el cariotipo humano, parece ser que existe similitud en la presencia de lugares frágiles entre el genoma porcino y el humano con diferentes tratamientos mutagénicos como la afidilcolina (Glover *et al.* 1984). Uno de los primeros trabajos que estudiaba la fragilidad del genoma porcino (Fries y Stranzinger, 1982) inducida por radiación X en semen, indicaba una mayor susceptibilidad de algunos cromosomas a sufrir mutaciones. La fragilidad del genoma porcino fue estudiada más extensamente por Riggs (1993) y Yang y Long (1993), mediante la exposición a afidilcolina o fluorodeoxiuridina (FUdR) en cultivos celulares de linfocitos. Posteriormente Ronne (1995) también estudió estos aspectos pero mediante tratamientos *in vitro* con antagonistas del folato, bromodesoxiuridina (BUdR) y Hoechst 33258. En este último se identificaron en total 60 lugares frágiles en el cariotipo porcino, que se muestran en la Figura 12. No obstante parece ser que existen discordancias con los resultados de la identificación de los lugares frágiles en porcino porque de estos 60 identificados solo 16 son comunes en los tres trabajos citados. Por otro lado, solo una parte de los puntos frágiles se corresponden con translocaciones identificadas *in vivo*, lo que hace difícil correlacionar los lugares frágiles con una mayor aparición de translocaciones espontáneas en esas regiones.

Entre todas las translocaciones recíprocas identificadas hasta la actualidad en la especie porcina, ninguna se repite en los mismos puntos de fragmentación en dos individuos diferentes, hecho que también se observa en la especie humana donde únicamente se repite un caso de una translocación $rcp(11;22)(q23.3;q11.2)$ identificada en varias familias aparentemente sin ninguna relación (Kaiser-Rogers y Rao, 1999).

Por lo tanto, a pesar de los diferentes estudios que demuestran la existencia de regiones con mayor fragilidad que otras en el genoma porcino, se debería disponer de más información en otras especies animales para demostrar que el elevado número de translocaciones identificadas en esta especie está relacionado con una mayor fragilidad de los cromosomas del cerdo.

Figura 12: Puntos frágiles del cariotipo porcino en el idiograma de bandas RBG (resolución de 600 bandas). Las flechas indican los puntos frágiles (Ronne, 1995).



2.7 Repercusiones de las translocaciones recíprocas sobre la reproducción en la especie porcina

La reproducción tanto en el verraco como en la cerda, se puede ver influenciada por numerosos factores. En el caso del verraco la producción espermática puede verse afectada por factores ambientales como los fotoperiodos largos (Mazzari *et al.*, 1968) y las temperaturas elevadas (Wettemann & Bazer, 1985), causando además estas últimas un empeoramiento de la calidad seminal (Larsson y Einarsson, 1984). Otros factores que repercuten en la producción espermática son el estado nutricional del verraco (Kemp, 1991), así como el intervalo de recogida de los eyaculados (Kennedy y Wilkins, 1984). Entre los factores intrínsecos que afectan a la producción espermática cabe citar la edad (Kennedy y Wilkins, 1984; Bertani *et al.*, 2002) y la raza del verraco (Kennedy y Wilkins, 1984). De igual manera en el caso de la hembra factores ambientales como los fotoperiodos largos y las elevadas temperaturas hacen incrementar el intervalo destete-cubrición, la disminución de la fertilidad o la generación de tamaños de menor tamaño (Hurtgen *et al.*, 1980; Claus y Weiler, 1985; Wetteman y Bazer, 1985; Prunier, 1994; Kermabon *et al.*, 1995). Los factores intrínsecos de la cerda como la raza (Bazer *et al.*, 1988) o la edad (Clark y Leman, 1986) también influyen sobretodo en el tamaño de la camada obtenido.

Otros aspectos como son la presencia de alteraciones cromosómicas en los reproductores también pueden repercutir sobre los diferentes parámetros reproductivos. En concreto en la especie porcina con numerosos casos descritos de animales portadores de translocaciones cromosómicas recíprocas, la mayoría de éstas han sido identificadas a partir de la detección previa de problemas de hipoprolificidad en verracos a los que posteriormente se realizaba un análisis citogenético. En el último trabajo publicado sobre el control de las anomalías cromosómicas en las poblaciones porcinas en Francia (Ducos *et al.*, 2007), se observa cómo se está produciendo un cambio de metodología, con la detección de numerosas translocaciones en los animales previamente a su entrada en centros de inseminación, pero queda también constancia del control en otros países vecinos (como Holanda). Por lo tanto, un gran número de las últimas translocaciones identificadas eran de animales de los que todavía no se tenían datos reproductivos. De las 21 alteraciones cromosómicas identificadas en verracos hipoprolíficos entre el año 2002 y 2007 todas resultaron ser translocaciones recíprocas, demostrando de nuevo la relación entre la

presencia de translocaciones y la reducción del tamaño de camada. Se estima que entre un 40 y un 50% de los verracos que presentan problemas reproductivos puede ser portadores de una alteración cromosómica (Gustavsson, 1988b; Popescu y Legault, 1988; Gustavsson y Jönsson, 1992).

2.7.1 Consecuencias sobre la gametogénesis

La principal consecuencia de la presencia de translocaciones recíprocas se produce a nivel de la gametogénesis en el individuo portador, y más concretamente a nivel de la recombinación y posterior segregación cromosómica durante el proceso de la meiosis (Benet *et al.*, 2005). En presencia de una translocación recíproca heterozigota, los cromosomas normales y translocados deben formar en la etapa de zigoteno de la primera división meiótica (profase), una figura denominada cuadrivalente que permita el apareamiento entre cromosomas homólogos. Otras figuras posibles que se pueden establecer en dicho apareamiento son: un trivalente y un univalente, dos bivalentes, o cuatro univalentes.

En el caso de formarse la configuración en cuadrivalente, después del apareamiento entre los cromosomas homólogos los tipos de segregación cromosómica posibles en la etapa de anafase son los siguientes:

- **Segregación 2:2.** Se produce cuando dos de los cromosomas del cuadrivalente migran hacia un polo y los otros dos hacia el polo opuesto. Este tipo de segregación puede ser a su vez alterna o adyacente produciendo diferentes tipos de gametos al finalizar la meiosis. La **segregación tipo alternante** se produce cuando los dos centrómeros alternos migran hacia el mismo polo, dando lugar a gametos normales o con la translocación equilibrada (igual que el animal portador) (Figura 13). Al contrario en la **segregación adyacente** los dos cromosomas adyacentes del cuadrivalente segregan hacia el mismo polo, y dependiendo de si se trata de los cromosomas no homólogos o los homólogos se denomina **adyacente I** ó **adyacente II** respectivamente. En ambos casos en los gametos se produce una pérdida de un fragmento de un cromosoma, y por lo tanto estarán en desequilibrio cromosómico. Esto implicará que después de la fecundación con un gameto normal los cigotos tendrán una trisomía y una monosomía parcial (Figuras 14 y

15). Pero además, si se produce la segregación adyacente II los efectos son más graves que en la adyacente II, puesto que la pérdida del fragmento cromosómico en los gametos desequilibrados es mayor.

Figura 13: Segregación alternante en un portador de una translocación recíproca.

Segregación alternante

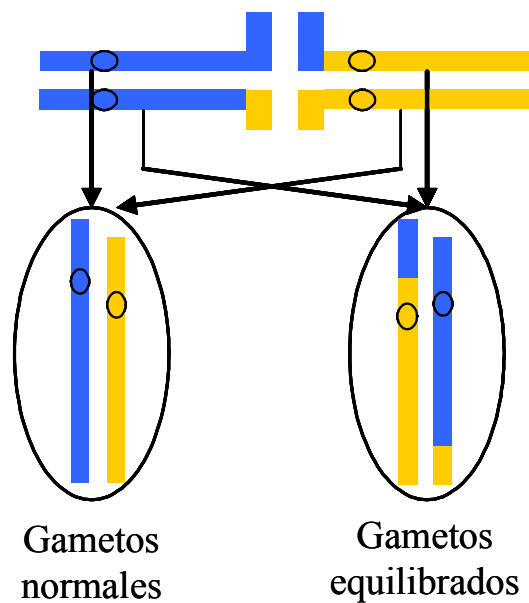


Figura 14: Segregación adyacente I en un portador de una translocación recíproca.

Segregación adyacente I

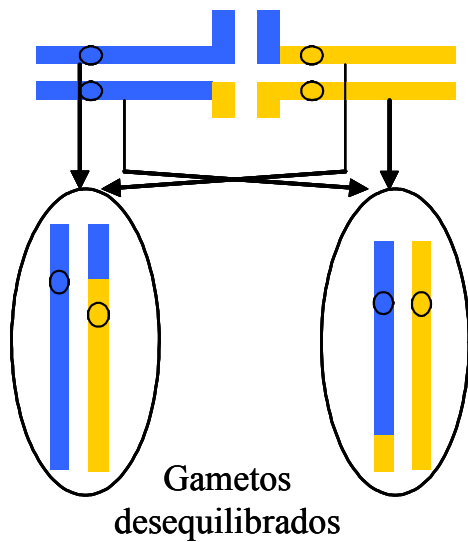
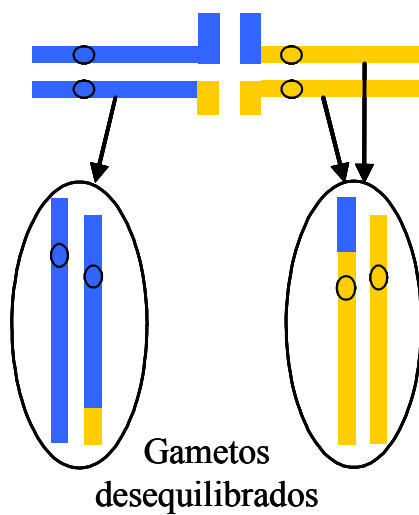


Figura 15: Segregación adyacente II en un portador de una translocación recíproca.

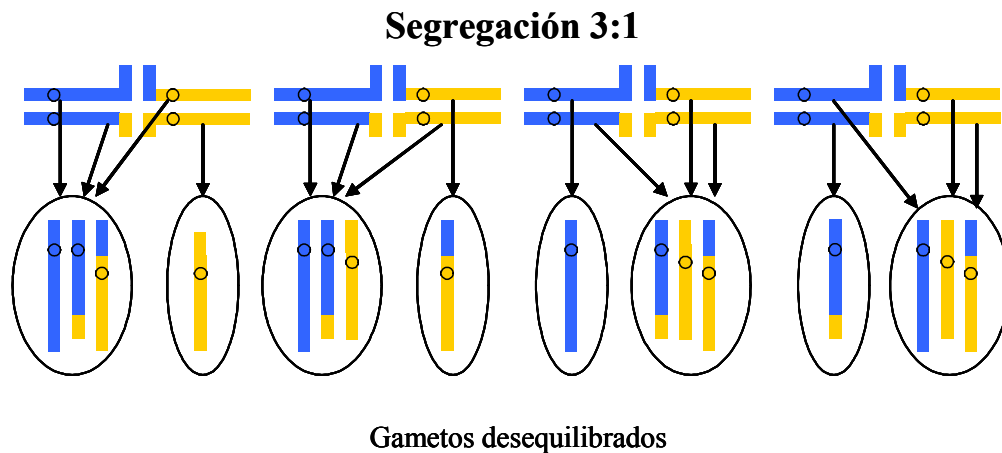
Segregación adyacente II



En todos estos casos si además se produce recombinación en el segmento intersticial, es decir en el fragmento entre el centrómero y el punto de la translocación, puede ocurrir que con una segregación adyacente se produzcan algunos gametos con constitución cromosómica equilibrada o normal, y de la misma manera en una segregación alternante puede ocurrir que se originen gametos desequilibrados.

- **Segregación 3:1.** Es poco frecuente y se puede producir de dos formas diferentes (Figura 16). En el primer caso los dos homólogos normales y uno de los cromosomas translocados migran hacia el mismo polo, y en el segundo caso los dos cromosomas translocados segregan con uno normal. En ambos casos se forman gametos desequilibrados que después de la fecundación con un gameto normal darán lugar a diversos tipos de monosomías o trisomías.

Figura 16: Segregación 3:1 en un portador de una translocación recíproca.



- **Segregación tipo 4:0.** Se produce cuando los 4 cromosomas que forman el cuadrivalente migran hacia el mismo polo, resultando después de la fecundación cigotos desequilibrados con monosomías o trisomías. Este tipo de segregación no se manifiesta prácticamente nunca.

Las frecuencias en que se producen los diferentes tipos de segregaciones se ha demostrado que son muy desiguales, y además varían de un tipo de translocación a otra. En general los cariotipos desequilibrados que portan monosomías son más letales que aquellos con trisomías (Epstein y Trevis, 1979).

Todas estas modificaciones del proceso normal de la recombinación pueden provocar problemas en el desarrollo de la gametogénesis, incluso deteniendo el proceso causando esterilidad en el animal. En porcino la mayoría de los estudios sobre la influencia de estas alteraciones en la gametogénesis se ha realizado en verracos, debido a su mayor trascendencia puesto que generan un mayor número de camadas que las hembras, y a que la mayoría de los casos de animales portadores se han identificado en machos.

La presencia de translocaciones recíprocas en el cariotipo de verracos normalmente no parece afectar a la espermatogénesis. Sin embargo existen algunos trabajos, aunque escasos, en los que si que se observa que pueden llegar a producir una disminución de la fertilidad del animal debida a una menor concentración o calidad espermática, ó incluso en algunos casos la detención total de la espermatogénesis y producir esterilidad total. Esto contrasta con los estudios realizados en otras especies como en el ratón o en humanos dónde la mayoría de veces el desarrollo de la meiosis no se llega a completar debido a la presencia de la translocación (Vincent *et al.*, 2002). El problema reside en que a pesar de no alterarse en la mayoría de las veces el proceso de la meiosis ni la gametogénesis, una proporción más o menos elevada de los gametos poseen la translocación desequilibrada conservando su capacidad fecundante. El resultado es el incremento de la mortalidad embrionaria, o incluso de lechones, y en consecuencia un menor tamaño de camada.

En numerosas translocaciones recíprocas identificadas en la especie porcina se han realizado estudios del proceso meiótico, con el fin de comprender mejor las consecuencias reproductivas de estas alteraciones. Los primeros trabajos realizados a nivel de la segregación cromosómica en las translocaciones fueron llevados a cabo por King *et al.*, en 1981, analizando el cariotipo de los embriones formados (antes y después de la implantación) de una fecundación con un verraco portador de una translocación recíproca rcp(13;14). Gustavsson *et al.* (1988) intentaron realizar análisis de los cromosomas meióticos a partir de 4 casos de diferentes translocaciones rcp(1;7); rcp(7;13); rcp(15;16); rcp(7;11) en machos hipoprolíficos. Aplicando las técnicas convencionales de estudios meióticos con microscopía de campo claro, y nuevas técnicas de análisis de complejos

sinaptonémicos mediante microscopía electrónica, intentaron determinar la formación de figuras durante el apareamiento de homólogos en la meiosis. Determinaron que en la mayoría de los casos se formaba la configuración de tipo cuadrivalente. Comprobaron que los gametos cromosómicamente desequilibrados llegaban a finalizar la meiosis, y por lo tanto eran potencialmente fecundantes, demostrando así igual que King *et al.* (1981), que la formación de cigotos cromosómicamente anómalos y su eliminación posterior, era la causa de la reducción del tamaño de las camadas observada en aquellos animales portadores de translocaciones.

Villágomez *et al.* (1991a) estudiaron la formación de complejos sináptonémicos en espermatocitos de dos verracos portadores de dos translocaciones diferentes, rcp(1;18) y rcp(7;17) mediante microscopía electrónica, según la técnica descrita por Counce y Meyer (1973). Observaron que el comportamiento en el apareamiento cromosómico durante la meiosis podía diferir enormemente entre dos translocaciones diferentes. La mayor parte de configuraciones encontradas eran cuadrivalentes, sin embargo en el caso de la translocación rcp(7;17) se daba la formación de un trivalente y un univalente en casi una cuarta parte de los casos.

Tan solo existen dos casos descritos de verracos portadores de translocaciones recíprocas en los que se ha comprobado que tienen afectado el desarrollo de la espermatogénesis. Ambos se detectaron en 1993, el primero de los cuales no se llegó a publicar (Gustavsson *et al.*, 1993 citado por Villagómez *et al.*, 1993), y se trataba de un verraco portador de una translocación rcp(2;4) que mostraba un desarrollo incompleto de la espermatogénesis, aunque la valoración de los parámetros cualitativos del semen eran normales. El segundo caso (Villagómez *et al.*, 1993) describía un verraco de raza Hampshire que presentaba una reducción de la prolificidad y la fertilidad, y cuyos controles de la calidad espermática durante tres meses mostraron una concentración espermática reducida aunque con una morfología y motilidad de los espermatozoides óptima. El animal presentaba una inflamación escrotal, y anatómicamente una ligera hipoplasia testicular que era más evidente en el testículo derecho, e histológicamente se observó que en casi todos los túbulos seminíferos del testículo derecho la espermatogénesis se detenía en la etapa de espermatocitos primarios, y sin embargo en el izquierdo se completaba en casi todos. La translocación identificada fue rcp(2;14)(p14;q23), y el estudio de los complejos sinaptonémicos durante la meiosis demostró que en la mitad de las células analizadas se

formaban cuadrivalentes completos, pero que el resto eran diferentes configuraciones en cuadrivalentes pero con segmentos no apareados. La observación más importante fue que en el testículo derecho, donde no se finalizaba el proceso de la espermatogénesis, la mayoría de configuraciones eran cuadrivalentes con apareamiento incompleto.

Así como la presencia de translocaciones recíprocas entre autosomas en la especie porcina, provoca únicamente en algunos casos una disminución de la fertilidad, en el caso de las translocaciones entre autosomas y cromosomas sexuales se ha demostrado que producen esterilidad total del verraco. La primera identificación de una translocación entre un cromosoma sexual y un autosoma en porcino fue descrita por (Gustavsson *et al.*, 1989) entre el cromosoma X y el 13. Fue detectada en varios lechones de una camada y procedía de la herencia materna. En el caso de uno de los machos se realizó un estudio de los complejos sinaptonémicos que se formaban en la meiosis durante la espermatogénesis, comprobándose que el 88.2% de apareamientos formaban cuadrivalentes, y el 11.8% trivalentes más un univalente. En la etapa de paquiteno se observaron numerosos apareamientos no homólogos (heterosinapsis), y se comprobó mediante un análisis histológico en el tejido testicular que la meiosis se detenía en la etapa de espermatocitos primarios, causando la esterilidad total del macho que además presentaba hipoplasia testicular. Una segunda translocación identificada entre el autosoma 14 y el cromosoma sexual X en un verraco (Villagómez *et al.*, 1991a), mostraba igualmente una detención de la meiosis en la etapa de espermatocitos primarios, presentando el animal esterilidad total. La translocación identificada era $rcp(Xp^+;14q^-)$, siendo el lugar de corte en el cromosoma 14 casi en el centrómero, y en el X en la región terminal del brazo p. Las configuraciones de apareamiento cromosómico encontradas mayoritariamente (90% de los espermatocitos) fueron bivalentes entre el cromosoma Xp^+ y el 14, y bivalentes entre el cromosoma Y y el $14q^-$. Se trataba de nuevo de una heterosinapsis o apareamiento no homólogo. La novedad de este estudio era que contrariamente a lo esperado existía una proporción elevada de bivalentes en vez de cuadrivalentes.

En estas dos publicaciones (Gustavsson *et al.*, 1989; Villagómez *et al.*, 1991a), y coincidiendo con los casos descritos en humanos y en ratón, los machos con una translocación X-autosoma son estériles, y esto es debido a que para que se complete la espermatogénesis el cromosoma X de un macho debe estar inactivado. Si el fragmento translocado del cromosoma X contiene la información necesaria para la inactivación, la

asociación entre segmentos autosómicos no apareados con los cromosomas sexuales pueden interferir en la inactivación del cromosoma X, lo que detiene el proceso de la espermatogénesis (Lifschytz y Lindsley, 1972).

En 1998 (Switoński y Stranzinger, 1998) realizaron una revisión de los trabajos existentes hasta el momento, que analizaban la formación de complejos sinaptonémicos en presencia de alteraciones cromosómicas en diferentes especies animales, y en general se observó que:

- Las translocaciones X-autosomas producen en todos los casos esterilidad del macho.
- El tamaño del fragmento cromosómico que se intercambia en la translocación, influye en el comportamiento del apareamiento en la meiosis, y por lo tanto en las posteriores consecuencias reproductivas de la translocación.
- El tipo de banda G (claro u oscura) dónde se da la fragmentación es un factor muy importante, que también influye sobre las repercusiones de la alteración.

Aunque en especies como el ratón (Searle, 1982) se han estudiado ampliamente las causas que provocan en algunos casos de translocaciones la disminución de la fertilidad o la esterilidad total, las razones de la degeneración celular en los machos estériles portadores aún se desconoce. Existen varias evidencias, en ratón y en el hombre, de asociaciones frecuentes entre el par cromosómico sexual y los segmentos no apareados en algunas translocaciones (Speed 1989; De Boer y De Jong, 1989). Este hecho se ha observado especialmente cuando en la translocación se ve involucrado un cromosoma acrocéntrico, dándose una frecuencia mayor de asociaciones inespecíficas con el bivalente formado por los cromosomas XY y en consecuencia la espermatogénesis suele detenerse (Gabriel-Robez y Rumpler, 1996). Esto parece ser debido a que los apareamientos entre los cromosomas sexuales y los autosomas translocados no apareados, interfieran en la inactivación del cromosoma X. En el cerdo este apareamiento entre el par cromosómico sexual y segmentos no apareados de la translocación solo se ha manifestado en dos casos. En la translocación rcp(2;4) (Gustavsson *et al.*, 1993 citado por Villagómez *et al.*, 1993) comentada anteriormente por provocar en el verraco portador una disminución de la concentración espermática y disminución de la fertilidad, debido a que no se completaba la espermatogénesis. La observación de las configuraciones meióticas mostró una elevada

frecuencia de asociación entre segmentos no apareados del cuadrivalente con los cromosomas sexuales. En otro caso descrito por (Villagómez *et al.*, 1995a) en una translocación (7;17), se observó como el cromosoma 17 derivativo era sumamente pequeño, y solo el 35% de los espermatoцитos mostraban formaciones en cuadrivalentes. El resto se trataba de cuadrivalentes abiertos o trivalentes más un univalente, y en un 17% de casos se observaron asociaciones entre el derivativo 17 y el par cromosómico sexual XY. Aún así la frecuencia de esas asociaciones nunca es tan abundante como se ha observado que ocurre en las translocaciones en humanos. Esto tiene como consecuencia directa que en el macho portador únicamente se observe un descenso de la prolificidad, pero no de la fertilidad, ya que la espermatogénesis sigue su transcurso normal. Sin embargo existe una elevada tasa de mortalidad embrionaria o de lechones pocas horas después del parto, como consecuencia de las fecundaciones con los gametos desequilibrados.

Otros autores han planteado otra teoría para explicar porque en porcino se llegan a formar un elevado porcentaje de gametos desequilibrados como resultado de la meiosis en un animal portador de una translocación, y sin embargo la espermatogénesis no suele detenerse. A partir de la identificación de una translocación *rec(4;14)* en un verraco (Jaafar *et al.*, 1989), y por lo tanto afectando también a un cromosoma acrocéntrico, observaron la formación de numerosos apareamientos heterólogos en cuadrivalentes, pero no con el bivalente XY. Estos autores proponían que las formaciones de sinapsis entre cromosomas no homólogos podrían ser un mecanismo para evitar que se detuviera la espermatogénesis, ya que se sabe que la presencia de asinapsis o segmentos no apareados en la etapa de leptoteno-zigoteno de la meiosis puede suponer en los machos una detención de la gametogénesis.

El mecanismo por el cual las células que no pueden llevar a cabo la recombinación en la meiosis o que presentan sinapsis incompletas son destruidas parece ser un proceso de apoptosis celular (Roeder y Bailis, 2000). Este fenómeno también ha sido estudiado en el cerdo (Koykul *et al.*, 2000) en una translocación X-cromosoma 14 en un verraco, observándose la degeneración celular cuando la meiosis se detenía en la etapa de paquiteno. Asimismo la presencia de un cromosoma suplementario en casos de trisomías como el caso de dos verracos con trisomía en el cromosoma 18 en forma de mosaico (Pinton, 2004b), suponía graves problemas de apareamientos en la meiosis que no permitían que se completara la espermatogénesis de las células disómicas (apoptosis). Otro ejemplo que demuestra la apoptosis celular, es el caso anteriormente citado (Villagómez *et al.*, 1993)

dónde se observaba una degeneración celular en los túbulos seminíferos del testículo derecho, coincidiendo con un mayor porcentaje de apareamientos irregulares entre los cromosomas.

Los perfiles de segregación meiótica en porcino, de machos y hembras portadores de la misma translocación recíproca se ha observado que tienen un comportamiento diferente (Pinton *et al.*, 2005), coincidiendo con los resultados observados en otras especies como en ratón (Tease *et al.*, 1998; Baudat *et al.*, 2000; Kasai *et al.*, 2003).

El desarrollo de las técnicas de hibridación *in situ* también se han aplicado al estudio de la segregación meiótica durante la espermatogénesis. En este caso la metodología se denomina “SpermFISH” y permite analizar la proporción de espermatozoides normales, equilibrados y desequilibrados cromosómicamente de machos portadores de alteraciones cromosómicas. Uno de los inconvenientes de la técnica es que no permite distinguir entre gametos normales y aquellos con la translocación equilibrada. En concreto en el caso de las translocaciones recíprocas los gametos normales y los equilibrados son producidos normalmente por un mecanismo de segregación alternante, mientras que los demás son el resultado de segregaciones adyacentes 1 y 2 y de la segregación 3:1 (Ducos *et al.*, 1996). Esta técnica se ha utilizado previamente en humanos para el estudio de los productos de segregación en diferentes reordenamientos cromosómicos (Blanco, *et al.*, 1998; Jaarola, *et al.*, 1998; Honda *et al.*, 2000; Anton *et al.*, 2002). En especies de animales domésticos se ha usado por ejemplo para cuantificar la cantidad de espermatozoides X o Y en la especie bovina (Hassanane, *et al.* 1999; Piumi, *et al.*, 2001; Rens *et al.*, 2001) y porcina (Kawarasaki *et al.*, 1998). Es precisamente en la especie porcina donde en los últimos años se ha utilizado esta técnica para intentar predecir el efecto sobre la prolificidad de las translocaciones recíprocas. En concreto Pinton *et al.*, (2004b) realizaron un estudio determinando por SpermFISH la proporción de gametos desequilibrados en el semen de verracos portadores de diferentes anomalías cromosómicas. Para el caso de la translocación $rec(3;15)$ determinaron que un 47,83% de los espermatozoides tenían desequilibrios cromosómicos, lo que suponía una porcentaje muy elevado respecto a la disminución de la prolificidad que era de tan solo un 23%. Esta diferencia la explicaban por los escasos datos de camadas que se obtuvieron del macho, siendo un promedio de prolificidad calculado con pocas muestras. Recientemente (Massip *et al.*, 2008) han determinado mediante la misma técnica la variación del porcentaje de gametos desequilibrados entre verracos portadores de la misma

translocación rcp(3;15)(q27;q13), así como la variación en muestras seminales recogidas en diferentes tiempos. Los resultados indicaron que en esta translocación específica el porcentaje de gametos desequilibrados producidos no variaba entre diferentes individuos portadores, ni tampoco a lo largo del tiempo analizado, aunque sugerían que serían necesarios estudios en todo el periodo productivo del verraco, así como en otras translocaciones.

2.7.2 Efectos sobre la mortalidad embrionaria, la prolificidad y la fertilidad

El promedio de producción de ovocitos de una cerda es de 12 a 20 por celo según las distintas razas (Bolet, 1986), de los cuales se acabarán fecundando el 95% (Polge, 1982). Sin embargo existe una elevada mortalidad embrionaria y fetal en la especie porcina (entre el 20 y el 45%, Spies *et al.*, 1960). Dicha mortalidad es bastante elevada sobretudo durante los primeros 30 días de gestación, con una estimación de un 20 a un 30% de mortalidad en dicho periodo (Pope y First, 1985). Entre los 40 y 100 días de gestación la pérdida estimada es algo menor, de un 10 a un 20%. La mayoría de las pérdidas embrionarias en los primeros 30 días, se producen entre el día 10 al 30 de gestación debido a numerosos factores que pueden afectar al embrión en las primeras etapas del desarrollo (Pope, 1994) como son: la sincronía entre el desarrollo uterino y el del embrión, la competencia embrionaria y los factores genéticos que contribuyen al desarrollo embrionario entre otros. Una parte importante de dichas pérdidas se ha demostrado que son debidas a la presencia de alteraciones cromosómicas (King, 1990).

La reducción de la prolificidad, es el parámetro más afectado por la presencia de translocaciones recíprocas heterozigotas en reproductores porcinos, y se ha demostrado que es debida a una elevada tasa de mortalidad embrionaria. Las primeras evidencias de que los gametos cromosómicamente desequilibrados, formados en la gametogénesis de verracos portadores de una translocación, llegaban a fecundar y formar embriones al menos hasta la etapa preimplantacional, fueron descritas en 1972 por Akeson y Henricson. En ese estudio, analizaron el cariotipo de los embriones formados antes de su implantación a partir de fecundaciones realizadas con un verraco portador de la translocación rcp(11;15). Los resultados indicaron la presencia 5 cariotipos diferentes, pero todos ellos cromosómicamente desequilibrados. Posteriormente King *et al.* (1981), a partir de la identificación de la translocación rcp(13;14), realizaron diferentes tipos de cruces entre machos y hembras

normales y portadores de la translocación, encontrando un porcentaje de mortalidad embrionaria mayor en el cruce entre dos animales translocados frente a aquellos en que solo uno de los progenitores era portador. Además observó como la mayoría de los embriones con cariotipo desequilibrado no llegaban a implantarse correctamente, y si alguno llegaba sufría degeneraciones y malformaciones. Popescu y Boscher (1982) analizaron los embriones de un macho portador de la translocación rcp(4;14) (Popescu y Legault, 1979; Legault y Popescu, 1981), resultando un 59,3% de los embriones portadores de la translocación en estado equilibrado o con el cariotipo normal, y un 40.7% con la translocación desequilibrada mostrando 6 tipos diferentes de desequilibrios cromosómicos, aunque no era un porcentaje exacto porque no se pudieron analizar todos los embriones. Ninguno de los lechones que nacían tenía el cariotipo desequilibrado cromosómicamente, concluyendo de nuevo en este trabajo que los desequilibrios cromosómicos eran letales en la etapa embrionaria temprana. No fue hasta la descripción y el estudio más exhaustivo de otras translocaciones, cuando se observó que en algunos casos de desequilibrios cromosómicos los embriones se llegaban a formar y a nacer lechones, aunque normalmente con numerosas malformaciones, aspectos que se tratarán en el siguiente apartado.

La reducción del número de embriones que se obtienen cuando uno de los progenitores es portador de una de translocación, hace disminuir la competencia embrionaria en el útero, y por lo tanto la supervivencia embrionaria suele ser mayor (Legault *et al.*, 1995). En algunos trabajos donde se ha controlado el peso de los lechones, se ha observado además que aquellos de camadas de machos con una translocación tienen un mayor peso al nacer, pero esto es también debido a la menor competencia embrionaria durante la gestación.

La estimación del valor promedio de reducción de la prolificidad debido a la presencia de translocaciones cromosómicas recíprocas en el cariotipo porcino es del 41% (Ducos *et al.*, 1996). Sin embargo entre diferentes translocaciones autosómicas la repercusión sobre el tamaño de camada es muy variable (Anexo), desde tan solo un 5% de reducción observado en algunas translocaciones como la rcp(1;14)(q23;q21) (Golish *et al.*, 1982), hasta un 100% en casos de esterilidad total del macho (Bouters *et al.*, 1974; Madan *et al.*, 1978; Gustavsson *et al.*, 1989; Astachova *et al.*, 1991; Parkanyi *et al.*, 1992; Singh *et al.*, 1994; Neal *et al.*, 1998). Esta variabilidad en los resultados de la reducción del tamaño de camada causada por una determinada translocación recíproca en un verraco, es debida a la influencia de numerosos factores como son: el manejo de la reproducción en las

explotaciones, factores intrínsecos de la hembra, del macho, etc. Por lo tanto los problemas encontrados en los diferentes trabajos al valorar el porcentaje real de disminución de la prolificidad son de distinta índole:

- Falta de datos reproductivos de verracos contemporáneos, del mismo centro de inseminación y utilizando sus dosis seminales en las mismas explotaciones y a reproductoras similares, con los que comparar los resultados de prolificidad del verraco identificado portador.
- La práctica habitual de la doble o múltiple inseminación por hembra, de manera que la cubrición se realiza con dosis seminales de machos diferentes, y por lo tanto se obtienen pocas camadas en pureza de un solo verraco. Esto provoca que el efecto de la presencia de un macho con una translocación se atenúe.
- La obtención de un escaso número de camadas del animal portador de la translocación.

Estos problemas se han ido solventando en los estudios citogenéticos realizados de diversas formas. Por ejemplo en el caso de no obtenerse datos con los que comparar los datos del verraco portador, la comparación se ha realizado con los resultados medios de prolificidad de la raza, o de la explotación en periodos de tiempo anteriores. Exceptuando algún trabajo realizado en centros experimentales (Bonneau *et al.*, 1991a), la gran mayoría de los datos reproductivos obtenidos de los animales portadores son de explotaciones comerciales, que utilizan un manejo reproductivo concreto. Así, el uso extendido de la doble inseminación o la heterospermia en dosis seminales, hace dudar sobre la paternidad y diluye el efecto de la translocación, obteniéndose reducciones del tamaño de camada menores y subestimando el efecto de la translocación. Por ejemplo Bonneau *et al.* (1991a) obtuvieron en el centro experimental una reducción de la prolificidad causado por la translocación $rcp(16;17)(q23;q21)$ (Popescu y Boscher, 1986) de un 80%, mientras que era tan solo del 31% en la explotación de origen, explicándose esta diferencia por el uso de la doble inseminación como práctica habitual en la explotación comercial. Esto conlleva también a que el número de camadas obtenidas de hembras inseminadas únicamente con un determinado verraco portador sean escasas para realizar un estudio estadístico del efecto de la alteración sobre los parámetros reproductivos.

Ducos *et al.* (1998a) identificaron cinco translocaciones en verracos hipoprolíficos, consiguiéndose datos reproductivos de 4 de ellos, uno de los cuales había generado pocas camadas. La medida de la reducción de la prolificidad únicamente se pudo obtener de dos de esas translocaciones, debido a la falta de datos reproductivos de otros verracos en la misma explotación para comparar. El resultado de comparar con promedios de prolificidad diferentes a los reales en la misma explotación, y de la falta de suficientes camadas de un verraco con una determinada translocación fueron estimaciones de los porcentajes de reducción de la prolificidad poco fiables.

Además del efecto de las translocaciones sobre la disminución de la prolificidad, en algunos casos se ha observado un incremento del porcentaje de repeticiones en las cubriciones de hembras con dosis seminales de machos portadores. Sin embargo al contrario que en otras especies animales en porcino existen pocos casos descritos en la bibliografía. Gustavsson *et al.*, (1988b) observaron un porcentaje de repeticiones mayor de lo normal, en hembras inseminadas con machos portadores de las translocaciones rcp(1;7) y rcp(15;16) (un 19% y un 21% de repeticiones respectivamente). Kuokkanen y Mäkinen (1987, 1988) publicaron tres nuevas translocaciones rcp(1;11); rcp(1;15); rcp(7;12) en las que también se observaba un incremento en el porcentaje de repeticiones aunque éste no se llegó a valorar. En los cruces experimentales que realizaron Bonneau, *et al.* (1991a) entre animales con una translocación recíproca y animales normales, observaron como se incrementaba el intervalo de tiempo entre la aparición del estro y la cubrición con éxito, debido a una tasa de retorno a celo mayor. Sin embargo los verracos portadores no presentaban problemas en la producción espermática. En un estudio publicado posteriormente (Villagómez *et al.*, 1993) identificaron un verraco con una translocación rcp(2;14) que presentaba un 41,3% de reducción de la prolificidad y una elevada tasa de repeticiones (24%). Mediante un análisis de la calidad del semen de este último verraco, se comprobó que tenía una concentración espermática reducida debido a problemas durante la espermatogénesis, y que esa podía ser la causa de dicha reducción de la fertilidad.

2.7.3 Efectos sobre la mortalidad de lechones y aparición de malformaciones congénitas

La incidencia estimada de lechones nacidos muertos en porcino es muy variable. En un estudio realizado por Dziuk en 1979 se estimó que era del 6-7% del número de nacidos

totales por camada. La mayor parte de mortalidad de lechones se produce durante el parto, siendo el tamaño de la camada uno de los factores que más influyen debido a que los partos de camadas mayores son más complicados. Además se ha observado como el 70% de los lechones nacidos muertos proceden de los tres últimos lechones expulsados en el parto (Daza, 1980). La mortalidad de lechones después del parto puede oscilar entre un 10-40%, aunque el valor medio se estima que es de un 15% (Svendsen, 1992), produciéndose la mayoría en las primeras horas post-parto.

Si aparecen problemas en el desarrollo del embrión en la etapa justamente posterior a la implantación, los embriones afectados normalmente mueren y son reabsorbidos. Si el daño es en la etapa fetal, los embriones que están afectados severamente pueden momificarse, pero sin embargo, si el daño no es muy grave éstos pueden sobrevivir lo que determina en muchos casos el nacimiento de animales con malformaciones (Edwards y Mulley, 1992). Según un estudio publicado por Leman *et al.*, (1979) sobre la mortalidad total de lechones por camada, solo el 5.2% eran lechones con diferentes malformaciones.

La presencia de cariotipos desequilibrados cromosómicamente en lechones nacidos vivos o muertos, se ha correlacionado con la aparición de ciertas malformaciones. Algunas como la fisura palatina, ausencia de mandíbula inferior o malformaciones en los miembros anteriores o posteriores, se han descrito en algunos trabajos al analizar la descendencia de animales portadores de translocaciones recíprocas. En muchos casos existe una gran similitud a las malformaciones encontradas en humanos debidas a la presencia de aberraciones cromosómicas, aunque todavía existe un gran desconocimiento de la relación entre la presencia de alteraciones y las malformaciones que se observan.

Tal y como se ha explicado anteriormente, de la fecundación entre un animal heterocigoto para una translocación recíproca y uno con cariotipo normal se forman algunos cigotos con un desequilibrio cromosómico. La mayoría de éstos cigotos no consiguen desarrollarse y son eliminados en la etapa de gestación temprana, antes de la implantación o justo después de ésta (King *et al.*, 1981; Popescu y Boscher, 1982; Gustavsson *et al.*, 1983). Solo en algunos casos se ha observado como algunos de esos cigotos pueden desarrollarse y llegar a nacer, aunque la mayoría presentan diferentes grados de malformaciones (lechones vivos o muertos) y son poco viables, muriendo normalmente en pocas horas.

El primer trabajo en que se describía la presencia de diferentes malformaciones en un lechón nacido muerto, y que se relacionó con la presencia de una translocación recíproca fue el de Hansen-Melander y Melander (1970), aunque se trataba de un mosaico celular con células normales y células con una translocación entre los cromosomas 1 y 11. No fue hasta 1977 (Miyake *et al.*), cuando a partir de una translocación Robertsoniana entre los cromosomas 13 y 17 detectada en un lechón con malformaciones, se planteó la posibilidad de que fuera debida a la presencia de la translocación desequilibrada. Esto se observó debido a que hermanos de la misma camada tenían el cariotipo y fenotipo normal, y se intuyó que el lechón malformado presentara la translocación en estado desequilibrado. Algunas de las malformaciones como diversas deformaciones faciales eran parecidas a las observadas por Hansen-Melander y Melander (1970), si bien se trataba de translocaciones diferentes. No obstante aunque el lechón nacía vivo, a las pocas horas moría.

En 1992 Gustavsson y Jönsson comprobaron por primera vez que los lechones nacidos con malformaciones de camadas de machos portadores de una translocación tenían la translocación desequilibrada. En ese estudio describían un caso de un verraco Hampshire portador de una translocación entre los cromosomas 14 y 15, que causaba una disminución de la prolificidad, pero además un incremento en el número de lechones nacidos muertos por camada y algunos con malformaciones. El análisis citogenético de los lechones con malformaciones determinó que existían monosomías en el cromosoma 14 o trisomías en el 15, y anatómicamente se observó la presencia de fisura palatina, defectos en el septo cardíaco y en algunos casos atresia rectal. Se propuso que el descenso del tamaño de camada era producido por la mortalidad embrionaria temprana de embriones con cariotipo desequilibrado, pero además por la mortalidad en etapas posteriores del desarrollo, incrementándose el número de lechones nacidos muertos que presentaban también la translocación desequilibrada. Para explicar que los lechones con cariotipo desequilibrado completaran el desarrollo embrionario y llegaran al nacimiento, estos autores ya planteaban, basándose en estudios en humanos (Daniel, 1979), que podía ser debido a la existencia de cariotipos desequilibrados menos desfavorables que otros. Seguramente al ser las monosomías más letales que las trisomías (Epstein y Trevis, 1979), y en este caso el fragmento translocado del cromosoma 14 muy pequeño, los cigotos con el cariotipo con trisomía parcial en el cromosoma 14 y monosomía parcial en el 15 se hubieran eliminado en

etapas embrionarias tempranas, y sin embargo los cigotos con cariotipo desequilibrado pero con monosomía parcial del cromosoma 14 o trisomía parcial de 15 hubieran salido adelante.

Villagómez *et al.* (1995b), publicaron la identificación de un macho con una translocación heterozigota rcp(7;17)(q26;q11), que presentaba una reducción importante de la prolificidad (41%), pero que además producía camadas con numerosos lechones que morían en pocas horas. El resultado del análisis citogenético de esos lechones reveló un cariotipo desequilibrado con trisomías o monosomías parciales, presentando además estos últimos las mismas malformaciones descritas por Gustavsson y Jönsson (1992). En otros lechones que también morían en pocas horas después de nacer, pero que no pudieron ser analizados, se observaron otras malformaciones como presencia de hidropesía subcutánea en el dorso, y contracturas en ambas falanges de las extremidades anteriores. Uno de los lechones con trisomía parcial del cromosoma 17 fue objeto de un estudio reproductivo gracias a que llegó hasta la edad adulta (Villagómez *et al.*, 1995b). Se propuso que el cigoto sobrevivía a pesar del desequilibrio cromosómico porque la trisomía comprendía únicamente un tercio de la longitud del cromosoma 17. Además basándose en los estudios en humanos, se cree que existe una correlación entre la presencia de bandas Q (o G) negativas y el efecto del desequilibrio cromosómico (Korenberg, *et al.* 1978), y precisamente en ese fragmento solo había una banda G negativa de pequeño tamaño entre el centrómero y el segmento G positivo telomérico.

Posteriormente Ducos *et al.* (2004) también identificaron alguna de las malformaciones anteriormente descritas, en lechones de un macho detectado portador de una translocación rcp(3;16)(q23;q22). Se trataba de un estudio muy amplio debido a que el macho había producido 100 camadas, y en todas ellas aparecían lechones afectados con hendidura palatina (Figura 17). La descripción de esos lechones también incidía en la incapacidad de amamantarse, debido a defectos en el frenillo lingual. Se analizaron 5 lechones malformados de diferentes camadas y todos tenían el mismo cariotipo desequilibrado 38, XX o XY der16t(3;16)(q23;q22) con dos cromosomas 3 normales, un cromosoma 16 normal y el otro translocado, es decir presentaba monosomía parcial del cromosoma 16 y trisomía parcial del cromosoma 3 (Figura 18).

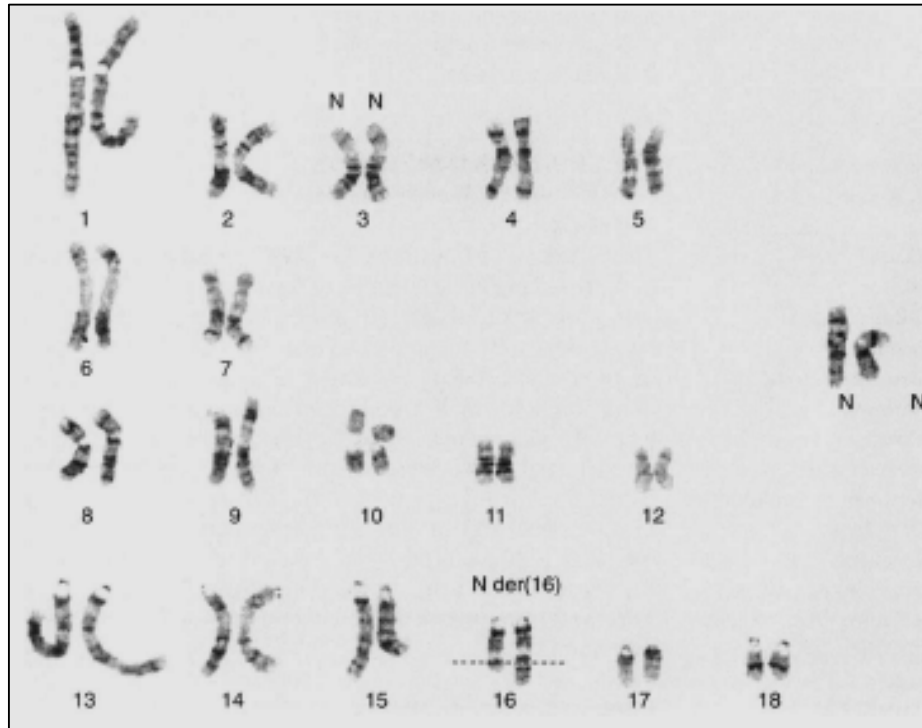
A pesar de las consecuencias reproductivas de las translocaciones recíprocas en estado heterocigoto, generalmente los animales son fenotípicamente normales, con rendimientos zootécnicos óptimos y no suelen presentar características diferenciales de los

animales con cariotipo normal. Todos los casos descritos de aparición de malformaciones en lechones son debidos a la presencia de cariotipos desequilibrados procedentes de la fecundación de gametos de un macho portador de una translocación.

Figura 17: Hendidura palatina en un lechón (Ducos *et al.* 2004).



Figura 18: Cariotipo de un lechón nacido con malformaciones con cariotipo 38, XX der16t(3;16)(q23;q22) con dos cromosomas 3 normales, un cromosoma 16 normal y uno translocado (Ducos *et al.* 2004).



N: cromosoma normal; der: cromosoma derivativo.

2.8 Control cromosómico de las poblaciones porcinas

Las repercusiones que las alteraciones cromosómicas, y en especial las 99translocaciones recíprocas, tienen sobre la reproducción en porcino indican la necesidad de que se lleve a cabo un control citogenético de los animales previamente a su utilización como reproductores. Sin embargo solo hay constancia de muy pocos países europeos que estén realizando estos controles, mediante programas nacionales de erradicación. La sistemática utilizada se basa en el registro de todas las cubriciones realizadas en explotaciones de reproductoras, con la identificación de los verracos que aporta las dosis seminales en cada una de ellas. De esta manera cualquier animal que presente una reducción de los parámetros reproductivos (disminución de la fertilidad, generación de camadas de menor tamaño, etc) puede ser detectado inmediatamente. El análisis a tiempo real de estos

datos, permite determinar que animales serán más susceptibles de ser sometidos a un análisis citogenético, principalmente determinando la frecuencia de los diferentes tamaños de camada generados. Este último punto relativamente sencillo en los machos, supone un problema en el caso de las hembras debido a que generan un número menor de camadas y hace más difícil el reconocimiento de hembras sospechosas. Estos sistemas de detección también han ido evolucionando, ya que durante los primeros años existía un enorme retraso en los sistemas de recogida informatizada de los datos reproductivos, y en consecuencia en el momento de detección de un animal sospechoso en muchos casos éste ya había sido sacrificado (Popescu y Legault, 1988; Legault y Popescu, 1993; Ducos *et al.*, 2000).

El uso extendido de la inseminación artificial en porcino hace indispensable el control citogenético de los verracos, para evitar el uso de animales portadores de alteraciones cromosómicas en los centros de inseminación. La inseminación artificial es una de las principales tecnologías que han sido aplicadas a la reproducción animal y que mayor expansión ha experimentado. Desde los primeros trabajos realizados en este campo por Ivanov (1922) en Rusia, se han ido mejorando los métodos de conservación del semen determinando los diluyentes óptimos para el semen porcino que permitieran la conservación del semen varios días sin la pérdida de la capacidad fecundante de los espermatozoides (Milovanov 1938; Anderson, 1945; Polge, 1956; Niwa, 1958). Aunque en un principio su evolución fue lenta desde los años 80 su uso se ha ido extendiendo ampliamente en Europa y EEUU, siendo actualmente utilizada en el 85% de las inseminaciones realizadas en España. Las ventajas de la inseminación artificial frente a los sistemas convencionales de cubrición son numerosas, entre las que cabe destacar: la difusión más rápida de la mejora genética realizada en los reproductores, evitar la transmisión de patologías por vía sexual, un mayor control de la producción y calidad espermática de los verracos, y la reducción del número de verracos necesarios en las explotaciones. En términos generales un verraco podría suministrar dosis suficientes para una explotación de 200-300 cerdas, lográndose hasta 500-700 camadas al año, lo que da una idea del alcance que podría tener la utilización de un verraco con algún problema patológico en un centro de inseminación.

La incorporación de nuevas técnicas como el “SpermFISH” aplicada al control citogenético de verracos antes de su utilización como reproductores, supondría una herramienta fundamental a la hora de decidir la necesidad de eliminar un verraco. Como se ha comentado existe una gran variabilidad en la reducción de la prolificidad causada por los

diferentes tipos de translocaciones recíprocas. Esta técnica permitiría valorar en el semen del macho translocado la proporción de espermatozoides cromosómicamente desequilibrados, y utilizarla como una medida *in vitro* del efecto potencial que la presencia de la translocación en el macho pueda tener sobre la prolificidad. En aquellos animales portadores en que la translocación no tiene un efecto muy grave sobre la cantidad de espermatozoides con desequilibrios cromosómicos, podría cuestionarse su eliminación.

No obstante a pesar de la importancia del control de los verracos, parece ser que habitualmente cuando una translocación es heredada lo hace por vía materna, y que podría ser en las hembras dónde precisamente las alteraciones cromosómicas se mantendrían en una población a lo largo del tiempo. Esto es debido a las mayores dificultades comentadas en la detección de reproductoras sospechosas. Además del efecto principal de la presencia de translocaciones recíprocas sobre la mortalidad embrionaria y por lo tanto sobre el tamaño de camada, parece importante mediante la ayuda de los técnicos de las explotaciones observar si se produce incremento en el nacimiento de animales con malformaciones. Éste puede ser indicativo de la existencia cariotipos desequilibrados cromosómicamente.

En resumen, la realización de análisis citogenéticos en los reproductores, tanto de hembras como de machos, se podría plantear como un requisito fundamental que evitaría las enormes pérdidas económicas que supone la utilización de animales con alteraciones cromosómicas en el cariotipo.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis ha sido el estudio citogenético de los reproductores de dos poblaciones porcinas no controladas anteriormente a nivel cromosómico, y para ello se han planteado los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar la incidencia de las alteraciones cromosómicas en los verracos de dos centros de inseminación artificial.
2. Estudiar la repercusión de la presencia de alteraciones cromosómicas sobre la calidad espermática, y sobre los parámetros reproductivos de prolificidad y fertilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

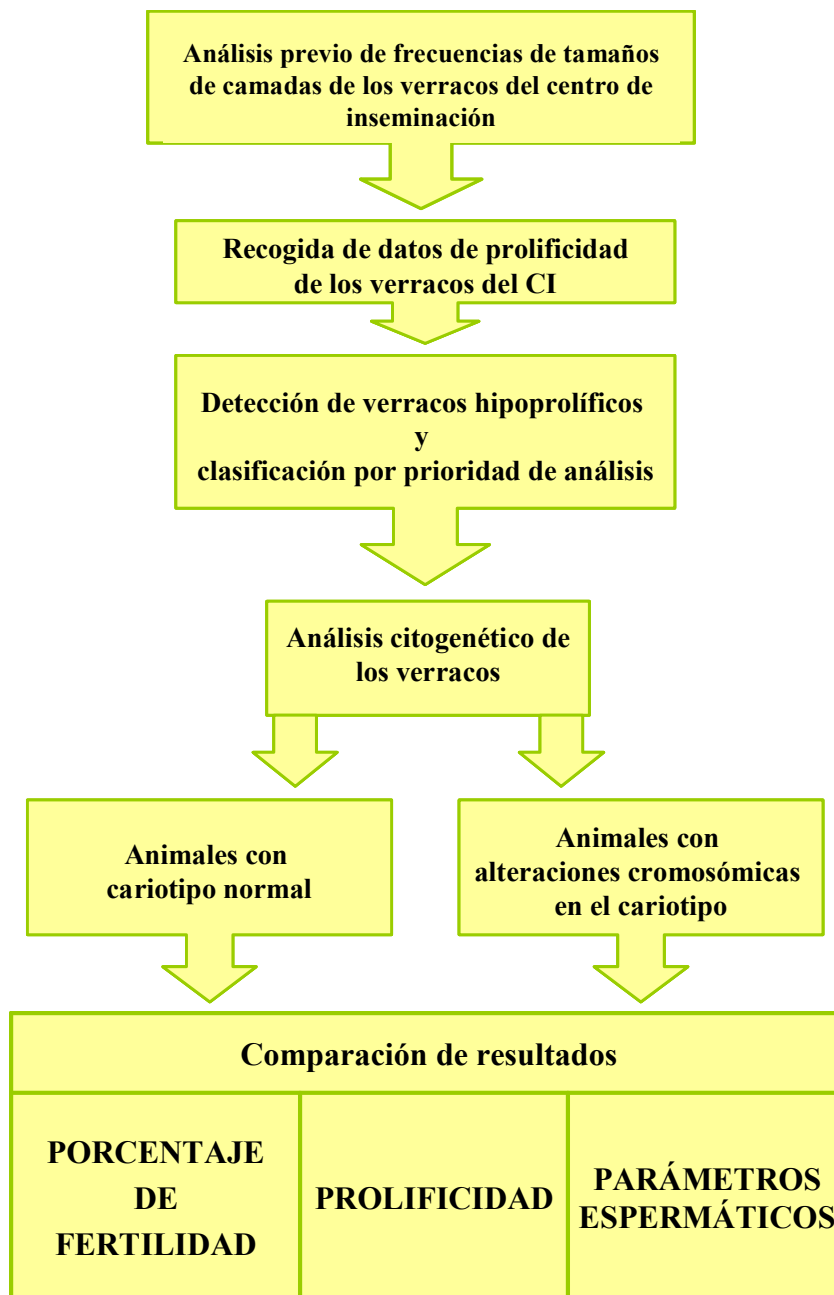
4. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha centrado en dos poblaciones porcinas de Castilla y León que estaban formadas por dos centros de inseminación y por varias explotaciones de reproductoras donde se destinaban las dosis seminales. La elección de ambas poblaciones se determinó por el descenso marcado en la prolificidad y/o de la fertilidad que se había observado previamente en las explotaciones donde se suministraban dosis procedentes de los centros de inseminación.

El estudio se inició con la recogida de los resultados reproductivos obtenidos de los verracos del centro de inseminación. En primer lugar se identificaron y obtuvieron los datos de los animales (número de identificación, edad, raza, fecha de alta e identificación de la ascendencia paterna y materna). A continuación se analizó la prolificidad obtenida en las cubriciones con dosis seminales de cada uno de los verracos (número de lechones nacidos vivos, muertos y totales por parto), y se calcularon las frecuencias de los distintos tamaños de camada obtenidos. En función de este criterio y de la edad del verraco, se estableció el orden para la realización de los análisis citogenéticos, considerando aquellos con una mayor frecuencia de tamaños de camada pequeños (7 ó menos lechones nacidos vivos) y de más edad como los prioritarios. Este orden se modificaba cuando se detectaba la presencia de alguna alteración cromosómica en un animal, analizando en primer lugar los animales que tenían algún parentesco con éste.

En aquellos animales identificados con alteraciones en el cariotipo, se recogieron los datos de las cubriciones realizadas en cada una de las explotaciones de reproductoras para proceder al estudio del posible efecto sobre la prolificidad y fertilidad, y también se analizó la existencia de alteraciones en la calidad espermática en los eyaculados de estos animales. Los resultados se compararon con los obtenidos de los verracos contemporáneos con cariotipo normal presentes en el centro de inseminación, donde fue detectado el verraco portador de la alteración cromosómica. En la Figura 19 se presenta el esquema del diseño experimental.

Figura 19: Esquema del diseño experimental.



4.1 Animales

Los animales muestreados para su posterior análisis citogenético pertenecían a las dos poblaciones citadas y que se denominarán como A y B. El alcance del estudio citogenético y las características de cada población fueron las siguientes (Tabla 4):

- En la primera población (población A), se analizó el cariotipo de 58 verracos del centro de inseminación. Se trataba de 5 verracos de raza Duroc y 53 de una línea sintética comercial (60% Large White, 30% Pietrain y 10% Duroc). Las dosis seminales de estos machos se destinaban a la inseminación de reproductoras pertenecientes a una línea sintética comercial hiperprolífica, compuesta por las siguientes razas: 50% Large White, 44% Landrace y 6% Meishan.
- En la segunda población estudiada (población B), se realizó el análisis citogenético de 31 verracos del centro de inseminación pertenecientes a la raza Duroc. Las dosis seminales de los verracos se destinaban a explotaciones de reproductoras híbridas compuestas por un 50% de raza Large White, y un 50% de raza Landrace.

Tabla 4: Descripción de las poblaciones de estudio.

	Población A	Población B
Nº total de verracos	58	31
Raza de los verracos	5 verracos Duroc 53 verracos LW x P x D	31 verracos Duroc
Raza de las hembras	LW x LD x Meishan	LW x LD

LW: Large White; P: Pietrain; D: Duroc;

4.2 Análisis citogenético

El estudio citogenético de los animales se realizó mediante la técnica de cultivo de linfocitos de sangre periférica total (Sánchez, 2005), con modificaciones realizadas previamente al presente estudio.

4.2.1 Recogida y transporte de las muestras de sangre

Las muestras de sangre se recogieron asépticamente mediante punción de la vena yugular o de la femoral, en un tubo BD Vacutainer® (Becton Dickinson, cat. n. 368884) de 4 ml con heparina (68 UI) como anticoagulante (Figura 20). Las muestras se trasladaron a temperatura ambiente al laboratorio para ser procesadas en un tiempo máximo de 24-48 horas, evitando la exposición a temperaturas extremas.

Figura 20: Extracción de sangre de un cerdo (Coll y Morillo, 2005).



4.2.2 Técnica de cultivo de linfocitos de sangre periférica

El análisis citogenético se realizó en el laboratorio del Centro de Pruebas del Porcino del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), y en el Departamento de Reproducción Animal del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Si se detectaba la presencia de alguna alteración cromosómica en el cariotipo de un animal, el análisis era repetido en ambos laboratorios por duplicado.

El medio de cultivo y todos sus componentes se prepararon en condiciones de esterilidad en cabina de flujo laminar vertical. Si no se indica lo contrario los medios y reactivos que se han utilizado son de Gibco® (Invitrogen). El esquema de la metodología seguida se muestra en la Figura 23.

El cultivo de linfocitos se realizó en viales estériles de 30 ml que contenían 10 ml de medio de cultivo RPMI 1640, suplementado con un 10% de NBS (Newborn Calf Serum), 1,5% de Penicilina-Estreptomicina (10.000 UI/ml/- 10.000 µg/ml), 1,5% de tampón Hepes (1M) y 2,5% de L-Glutamina (200mM). Como agente mitógeno que estimula la proliferación de los linfocitos T, se utilizó la fitohemaglutinina. Por último, se añadía al medio un volumen de la muestra de sangre de 0,5 ml, y heparina sódica (Mayne) como anticoagulante.

El cultivo se realizó en una estufa de cultivo, en atmósfera de aire, a 37°C durante 72 horas. En los últimos treinta minutos de cultivo se añadía Colcemid a una concentración final en el medio de 0,1 µg/ml. El Colcemid es un análogo de la colchicina (Figura 21) que despolimeriza los microtúbulos del citoesqueleto, impidiendo la formación del huso mitótico, y por lo tanto bloqueando la mitosis en la etapa de metafase (Figura 22).

Figura 21: Fórmula del Colcemid.

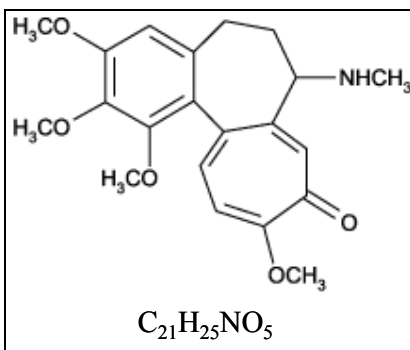
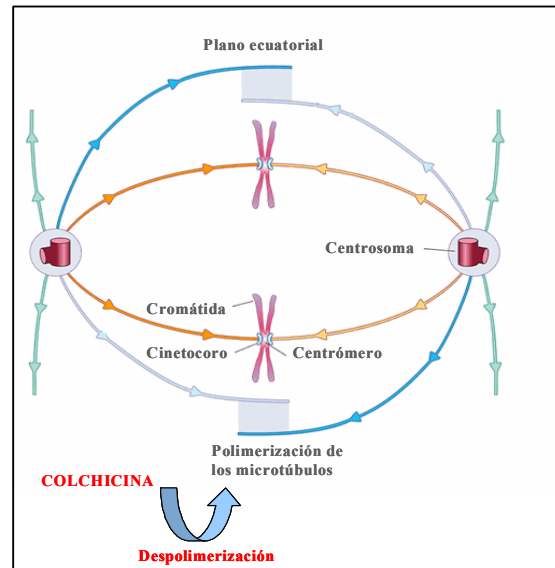


Figura 22: Actuación de la colchicina sobre la mitosis.

4.2.3 Ruptura de membranas y fijación celular

Una vez finalizadas las 72 horas del cultivo celular, se procedía según el siguiente protocolo:

1. El contenido de los viales de cultivo se traspasaba a tubos estériles. A continuación se centrifugaban a 450g durante 10 minutos, eliminando el sobrenadante.
2. A cada tubo se le añadía una solución hipotónica de CLK (140 mOsm/Kg H₂O) atemperada a 37°C, y se mantenían 25 minutos en el baño a 37°C. Esta solución provoca un choque osmótico en la célula, causando la entrada de agua en la célula por un fenómeno de ósmosis, con la ruptura de las membranas celulares.
3. Los tubos se retiraban del baño y se añadían unas gotas de fijador Carnoy fresco (3:1, metanol: acético), resuspendiéndose y centrifugándose de nuevo durante 10 minutos a 450g. El Carnoy actúa como fijador, por una parte el ácido acético causa la lisis de las estructuras membranosas, y por otra el metanol precipita la cromatina.
4. A continuación de la centrifugación, se descartaba el sobrenadante y se añadían 8 ml de Carnoy, resuspendiéndose inmediatamente para evitar la formación de agregados celulares. Se centrifuga de nuevo durante 10 minutos a 450g.

5. Este último paso de fijación se repetía de 3 a 5 veces, hasta obtener un sobrenadante transparente y un pellet celular blanco sin restos citoplasmáticos. El sobrenadante se eliminaba dejando de 1 a 2 ml de suspensión celular para su posterior extensión.
6. La suspensión se mantenía en frío a 4°C durante un tiempo mínimo de 2 horas, para favorecer la extensión de los cromosomas.

4.2.4 Extensión de las preparaciones cromosómicas

La suspensión celular se extendía en portaobjetos desengrasados y ligeramente humedecidos. El material fijado restante se conservaba a -20°C.

Las condiciones en las que se realiza la extensión condicionan la calidad de las preparaciones, siendo importante que se mantenga una temperatura de unos 20°C y una humedad relativa del aire del 40-45%.

4.2.5 Técnica de bandeo cromosómico

La técnica de bandeo cromosómico utilizada para teñir las extensiones de cromosomas metafásicos fue el bandeo GTL, basada en el método descrito por Seabright (1971). Este tipo de bandeo consiste en un tratamiento enzimático con tripsina y una coloración posterior con Leishman (Sigma). El protocolo utilizado fue el siguiente:

1. El porta se sumergía en una solución de tripsina al 0,05% en solución salina. El tiempo variaba entre 5-20 segundos, dependiendo de la muestra, de las condiciones del choque hipotónico y fijación celular, y de la temperatura ambiente.
2. A continuación se lavaba el porta en solución salina.
3. Inmediatamente se sumergía en solución de colorante Leishman diluida en una proporción 1:3 (una parte de solución colorante en 3 partes de solución salina). La solución Leishman había sido previamente preparada diluyendo 0,15 g de colorante (Sigma) en 100 ml de metanol.
4. El porta se mantenía durante 3 minutos en la solución colorante y a continuación se lavaba de nuevo en solución salina.

El resultado del bandeo cromosómico se examinó en un microscopio de campo claro (Olympus) a 1000 aumentos.

4.2.6 Análisis microscópico

Los análisis se llevaron a cabo mediante el software *CytoVision Genus®* (Applied Imaging) en el ITACyL, y el software *Ikaros* (MetaSystems) en el INIA (Figura 24). El número de cromosomas se contó en al menos quince metafases completas por individuo, de las cuales se ordenaron los cromosomas de al menos diez de ellas para comprobar si presentaban un cariotipo normal (Figura 25). Los cromosomas se organizaron de acuerdo al cariotipo estándar del cerdo (*Committee for the Standardized Karyotype of the Domestic Pig, Gustavsson , 1988*).

Figura 23: Etapas de la técnica de obtención de preparaciones cromosómicas a partir del cultivo de linfocitos.

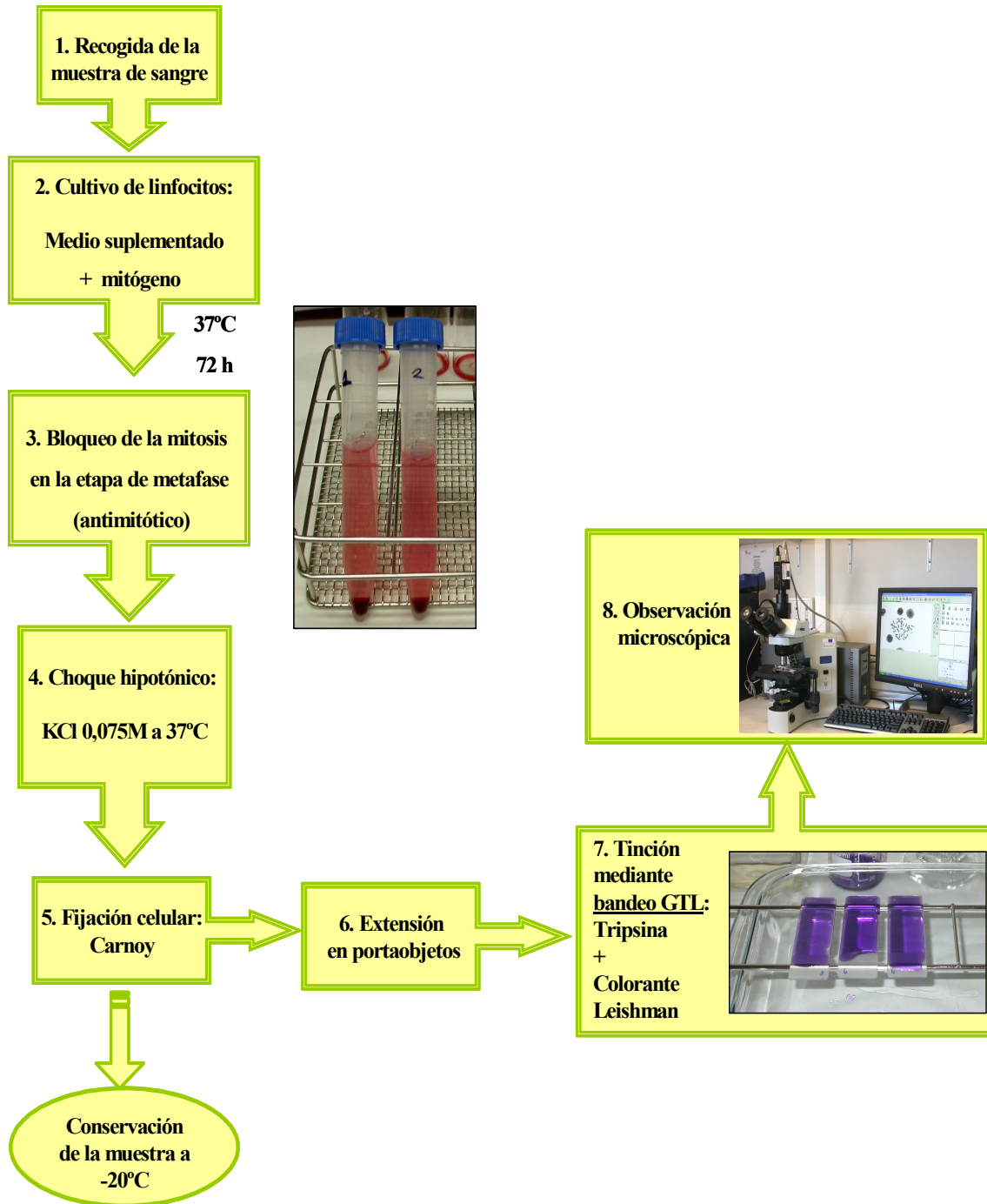
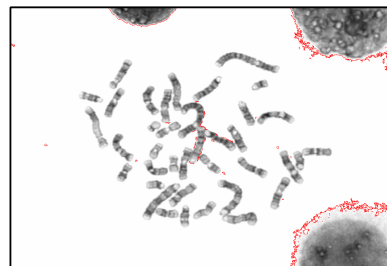


Figura 24: Análisis microscópico informatizado del cariotipo.

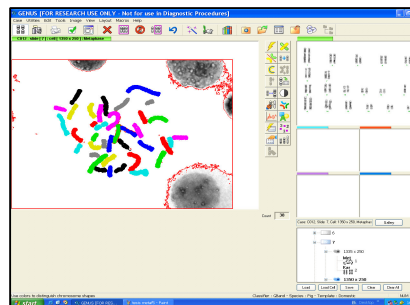
1. Observación al microscopio



2. Captura de la metafase



3. Análisis de imagen: separación de los cromosomas



4. Clasificación de los cromosomas en la plantilla

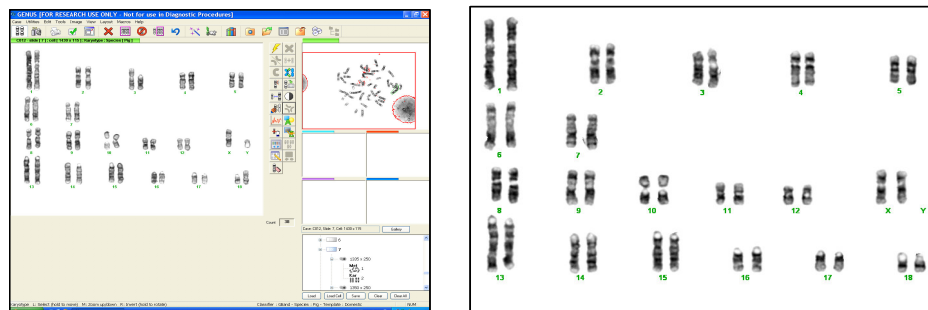
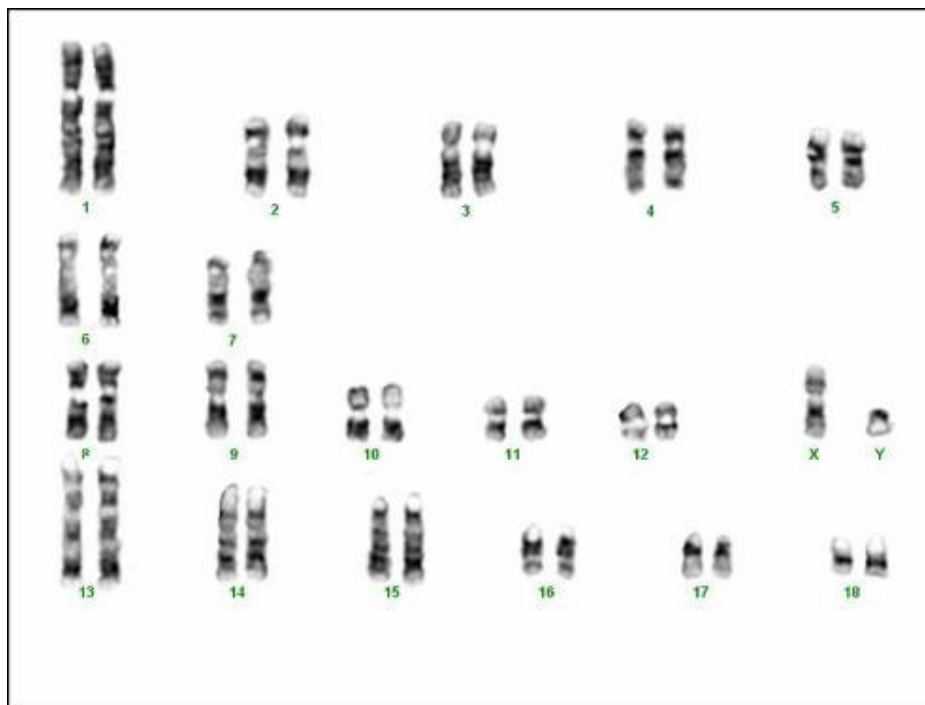


Figura 25: Cariotipo normal de un verraco.

4.3 Valoración de los parámetros espermáticos

El ritmo de recogida fue de una extracción semanal por verraco. El procedimiento para la recogida del semen se realizó mediante extracción manual en recipiente atemperado a 37°C, recogiendo la fracción espermática y postespermática del eyaculado. Inmediatamente se transportaba al laboratorio donde se anotaba el volumen de recogida, se procedía a la evaluación de los parámetros espermáticos, y se diluía en diluyente comercial atemperado a 37°C hasta conseguir una concentración final por dosis de 3×10^9 espermatozoides. Las dosis seminales se mantenían a 15°C hasta su transporte a las explotaciones de reproductoras.

Los datos de las recogidas realizadas a cada verraco se registraban mediante el programa de gestión MR-A® *WinPro* (Kubus S.A.).

Se realizó una contrastación del semen puro valorándose la concentración espermática, la motilidad, el estado del acrosoma y el porcentaje de morfoanomalías.

La concentración espermática se calculó mediante recuento en cámara de Bürker, utilizando semen puro diluido en proporción 1:100 en una solución salina formolada. El

recuento se realizó en un microscopio de contraste de fases (Nikon) a 400 aumentos, expresándose el resultado en número de espermatozoides por mililitro (spz x 10^6 /ml). La concentración total de espermatozoides por eyaculado se calculó multiplicando la concentración espermática por el volumen de eyaculado obtenido.

El porcentaje de motilidad era evaluado por un operario, a partir de una muestra de semen depositada sobre un portaobjetos atemperado en una placa calefactora a 37°C, y mediante la observación en un microscopio de contraste de fases a 100 aumentos.

El porcentaje de morfoanomalías y el estado del acrosoma se valoraron a partir de semen puro (100µl), diluido en 1 ml de una solución de glutaraldehído al 2%. El porcentaje de morfologías anormales se valoró a partir de la observación de al menos 100 células con el microscopio de contraste de fases a 400 aumentos, clasificándolas en: normales, con presencia de gota citoplasmática distal, con gota citoplasmática proximal, o con presencia de cola en látigo y otras formas anormales. El estado del acrosoma se valoró a 1000 aumentos en microscopio de contraste de fases mediante el recuento en 100 espermatozoides, clasificándolos según la presencia de acrosoma normal o dañado (incluyendo en este último los estados “perdiendo” o “perdido”) (Pursel *et al.*, 1972).

4.4 Metodología de la inseminación artificial en las explotaciones

La detección del celo de las hembras se realizaba observando el reflejo de inmovilidad de la reproductora ante el contacto con un verraco recela. En el caso de la población A la detección de celo se realizaba dos veces al día, en las primeras horas de la mañana y de la tarde. Una vez detectado el celo de las hembras, se procedía a aplicar una dosis seminal de 100 ml con una concentración de 3×10^7 /ml espermatozoides, y a las 24 horas se reinseminaba con otra dosis. En el caso de volverse a detectar el celo se aplicaban sucesivas dosis cada 12 hasta que desapareciese la sintomatología del celo. En la población B la detección del celo de las reproductoras se realizaba solo a primera hora de la mañana, y una vez detectado se inseminaba con una dosis seminal de 100 ml de 3×10^7 /ml espermatozoides y una segunda dosis a las 24 horas. Por lo tanto en el caso de la población A, las reproductoras podían llegar a estar cubiertas con numerosas dosis seminales según la duración del celo, mientras que en el caso de la población B en todos los casos se utilizaban dos dosis seminales. Éstas dobles o múltiples inseminaciones se realizaban en su mayoría con dosis seminales de machos diferentes.

4.5 Evaluación de los parámetros reproductivos en las poblaciones estudiadas

Los parámetros reproductivos evaluados fueron la tasa de fertilidad y la prolificidad de las reproductoras de las dos poblaciones, inseminadas con dosis seminales de los machos de ambos centros de inseminación. Los datos se depuraron observándose que no se produjera coincidencia en una misma cubrición de la inseminación con dosis seminales de varios verracos con diferentes alteraciones cromosómicas, para poder analizar el efecto de cada una por separado. Se registraron los datos reproductivos de una explotación de reproductoras en el caso de la población A y de dos explotaciones en el caso de la B. De cada una de las reproductoras se controlaba el momento de la inseminación, el número de dosis seminales utilizadas y la identificación del verraco, así como la gestación y el parto anotándose los posibles abortos y el número de lechones nacidos vivos y muertos por camada. El número de lechones destetados por cerda y parto no pudo ser controlado en ninguna de las dos poblaciones, debido a que durante las primeras 24 h de vida se realizaban adopciones entre camadas para equilibrar el número de lechones por hembra. La fertilidad fue determinada para cada verraco como el porcentaje de cubriciones en que se logró finalizar la gestación del total de cubriciones realizadas. La prolificidad fue definida como el número de lechones nacidos totales por camada. Los programas de gestión de las explotaciones de reproductoras con los que se registraron todos los datos fueron el software ZAP (Agrovision) en el caso de la población A, y FARM (Agrovision) en el caso de la población B.

Los resultados de prolificidad y fertilidad en las hembras, debido al tipo de manejo en las explotaciones, se obtuvieron a partir de cubriciones realizadas con varias dosis seminales de verracos que en la mayoría de los casos eran diferentes. Por lo tanto para analizar el efecto de un determinado macho detectado con una alteración cromosómica sobre los parámetros reproductivos, se clasificaron las cubriciones realizadas con sus dosis seminales en función de su porcentaje de participación ($\text{dosis del verraco} \times 100 / \text{dosis seminales totales usada por cubrición}$). No obstante en algunos casos si que se obtuvieron datos registrados de cubriciones realizadas en pureza, es decir con todas las dosis seminales aplicadas pertenecientes al mismo verraco en estudio. La clasificación de los tipos de cubriciones para el análisis del efecto sobre los parámetros reproductivos de un determinado macho portador de una alteración cromosómica fueron los siguientes:

- Población A: Según el patrón utilizado de detección de celos y el sistema de cubriciones, en la mayoría de los casos se utilizaban un número elevado de dosis seminales por cubrición. Para cada verraco se procedió a la clasificación de todas las cubriciones en las que participaba con alguna dosis en cuatro grupos diferentes:
 - a) cubriciones en las que hasta un 25% de las dosis usadas pertenecían al verraco,
 - b) cubriciones en las que hasta un 50% de las dosis usadas pertenecían al verraco,
 - c) cubriciones en las que hasta un 75% de las dosis usadas pertenecientes al verraco,
 - d) y aquellas cubriciones realizadas únicamente con dosis del verraco (100%).
- Población B: en esta población se inseminaba a cada hembra únicamente con dos dosis seminales por cubrición, y por lo tanto para evaluar el efecto de un determinado verraco se establecieron solo dos clases de cubriciones:
 - a) cubriciones en que el verraco participaba con una dosis seminal (50%),
 - b) y cubriciones en pureza en que las dos dosis pertenecían al verraco (100%).

4.6 Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron usando el paquete estadístico SAS (*Statistical Analysis Systems Institute, 1990, v. 9.1*). Por un lado se analizaron para cada verraco identificado con alteración cromosómica los resultados reproductivos de fertilidad y prolificidad, y por otro se analizaron los resultados de la calidad espermática.

El efecto de la presencia de las alteraciones cromosómicas sobre los resultados reproductivos de fertilidad y prolificidad se analizó por separado para cada uno de los verracos identificados como portadores. La unidad experimental en el caso del análisis de los datos de prolificidad fue la camada, y para el caso del análisis de la tasa de fertilidad fue la cubrición. En la población B, cuando existían datos registrados de las dos explotaciones de reproductoras se analizaron por separado. Los resultados de la prolificidad obtenida se evaluaron mediante un análisis de varianza con el procedimiento GLM. Para analizar el efecto sobre la fertilidad se utilizó el procedimiento CATMOD. En el modelo se incluyó como efecto fijo la presencia de la alteración en el cariotipo, que presentó varios niveles

correspondientes a los diferentes porcentajes de dosis seminales del verraco con alteración utilizadas para las cubriciones.

El efecto de la estación del año en que se realizaba cada cubrición (primavera, verano, otoño, invierno) y el del número de parto de la hembra se incluyeron en un primer análisis en el modelo estadístico. Sin embargo al comprobar que incluyendo todos los efectos no variaban en ningún caso las diferencias significativas obtenidas debidas al efecto de la alteración, éstos fueron eliminados del modelo.

Los resultados de la evaluación de los parámetros espermáticos de los verracos con alteraciones cromosómicas fueron comparados con los obtenidos de los verracos contemporáneos en el centro de inseminación con cariotipo normal. La unidad experimental considerada fue cada recogida seminal, y los datos se analizaron mediante un análisis de varianza con el procedimiento GLM. El efecto fijo considerado en el modelo fue la presencia de la alteración en el cariotipo. En un análisis preliminar se incluyó el efecto de la estación del año en que se recogía, sin embargo al no variar las significaciones detectadas debidas al efecto de la presencia de la alteración dicho efecto se eliminó del modelo estadístico.

El análisis estadístico descriptivo de las frecuencias de los distintos tamaños de camada se realizó mediante el procedimiento FREQ.

Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas si $P < 0,05$. Cuando el análisis de varianza revelaba efectos significativos, las medias se compararon mediante la instrucción LSMEANS, Los datos se expresan como la media por mínimos cuadrados \pm error estándar de la media.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

Los resultados del análisis citogenético de las dos poblaciones (A y B) se presentan a continuación. Para cada verraco identificado como portador de alguna alteración cromosómica en el cariotipo los resultados se desarrollan en los siguientes apartados:

1. Descripción detallada de la alteración cromosómica según los resultados del análisis citogenético.
2. Valoración de los resultados reproductivos del animal (prolificidad y fertilidad).
3. Valoración de los resultados del estudio de la calidad espermática del verraco.

5.1. Resultados de la población A

Los resultados del análisis de cariotipo de los verracos del centro de inseminación de la población A, determinaron que 56 de los 58 animales analizados presentaron un cariotipo normal (38, XY). Sin embargo se detectó la presencia de alteraciones cromosómicas en el cariotipo de 2 verracos de raza Duroc, utilizados como finalizadores en granjas comerciales. El análisis previo de la población había mostrado que estos animales presentaban datos reproductivos alterados, generando un elevado número de camadas de pequeño tamaño. El cariotipo de los progenitores de estos animales no pudo ser analizado, ya que habían sido sacrificados en el momento en que se realizó el estudio citogenético. Sin embargo los registros del árbol genealógico demostraron que estaban emparentados ya que presentaban un abuelo común. La alteración cromosómica identificada en el cariotipo de ambos verracos fue de tipo estructural, tratándose de una translocación cromosómica recíproca idéntica.

A continuación se presentan los resultados del análisis citogenético de ambos verracos, y del estudio de los parámetros reproductivos comparados con los obtenidos de verracos contemporáneos con cariotipo normal en las mismas explotaciones de reproductoras. En el caso del estudio de los parámetros espermáticos de ambos verracos se comparan con los obtenidos en verracos contemporáneos del centro de inseminación y de la misma raza Duroc.

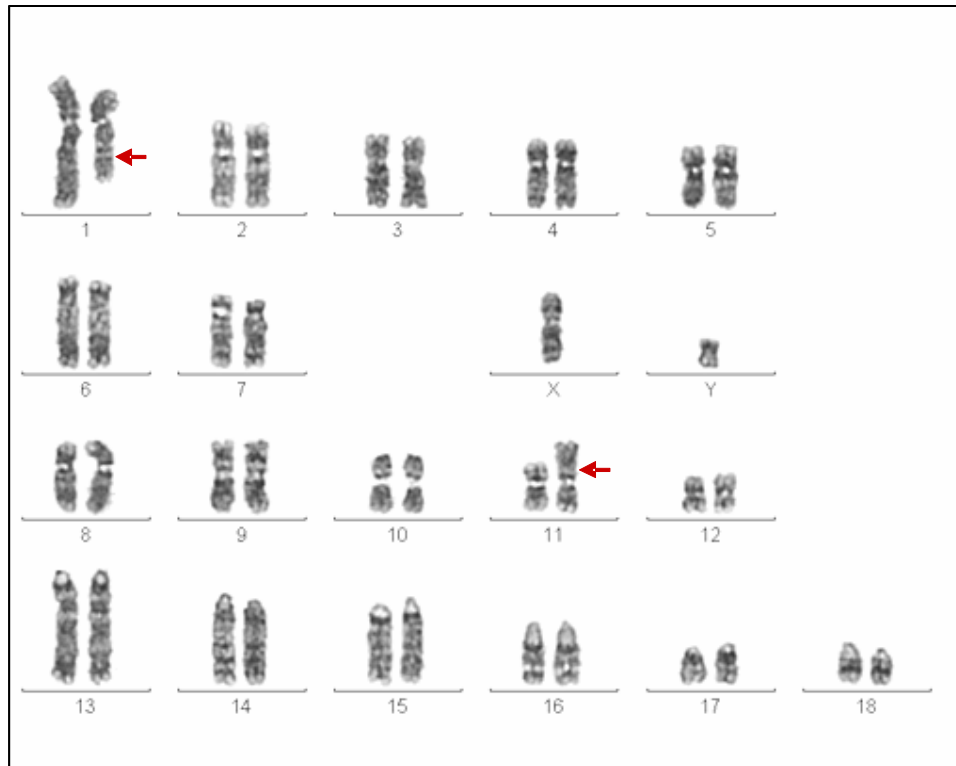
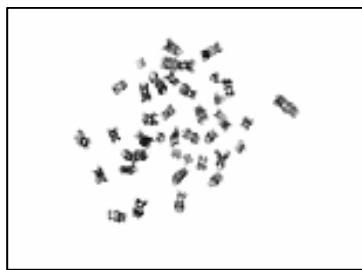
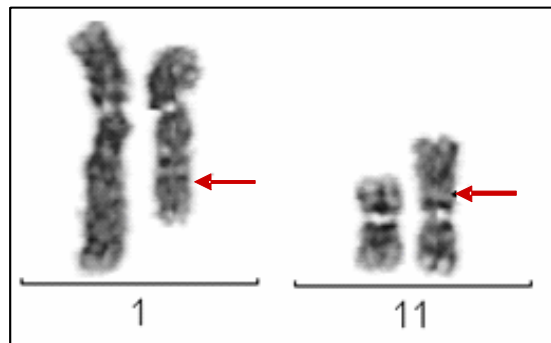
5.1.1. Resultados obtenidos con el verraco portador 1

El macho presentaba características fenotípicas completamente normales. En el momento en que se le realizó el análisis citogenético tenía 38 meses de edad, y llevaba en el centro de inseminación dos años y siete meses.

5.1.1.1. Análisis citogenético

El análisis del cariotipo del verraco determinó en todas las metafases un complemento cromosómico correcto 38,XY. No obstante, a pesar de no presentar alteración cromosómica numérica, en todas las células se observó una longitud más corta del brazo largo (q) de uno de los cromosomas del par homólogo 1, y se localizó una longitud anormal del brazo corto (p) de un cromosoma del par 11. Mediante el análisis en detalle del patrón de bandas G, se determinó que se trataba de una translocación recíproca entre ambos cromosomas, produciéndose una fragmentación y posterior fusión entre los fragmentos. Los puntos de fragmentación se determinaron en la banda positiva q24 del cromosoma 1 y en la banda negativa p13 del cromosoma 11 (Figura 26). Por lo tanto la alteración descrita en este individuo corresponde a la translocación recíproca $rcp(1;11)(q24;p13)$.

Figura 26. 26.A: Cariotipo de bandas G del verraco 1 de la población A, $rec(1;11)(q24;p13)$. 26.B: imagen de la metafase. 26.C: Detalle de la translocación. Los puntos de fragmentación están indicados con flechas.

**26 A****26 B****26 C**

5.1.1.2. Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador

La repercusión de la presencia de la translocación cromosómica en el cariotipo del verraco sobre la eficiencia reproductiva se estudió en un total de 523 cubriciones. Éstas fueron clasificadas en cuatro grupos en función del porcentaje de participación del verraco: 25-50-75 y 100% de la totalidad de las dosis seminales utilizadas por cubrición pertenecientes al verraco portador. Los resultados se compararon con 181 cubriciones realizadas en la explotación de reproductoras en el mismo periodo de tiempo, pero con dosis seminales de los machos con el cariotipo normal (38, XY) del mismo centro de inseminación. En la Tabla 5 se reflejan los resultados del efecto de la participación en las inseminaciones del macho portador de la translocación sobre el tamaño de la camada.

Tabla 5: Influencia sobre el tamaño de camada de la participación del verraco 1 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

	Machos no portadores	% Dosis del macho portador ¹				P-valor
		25	50	75	100	
Nº de camadas	167	224	158	71	22	
Lechones nacidos totales	13,58 \pm 0,259 ^a	13,15 \pm 0,223 ^a	12 \pm 0,266 ^b	11,93 \pm 0,397 ^b	9,59 \pm 0,713 ^c	<0,0001
Lechones nacidos vivos	12,73 \pm 0,247 ^a	12,29 \pm 0,213 ^a	11,17 \pm 0,254 ^b	11,14 \pm 0,380 ^b	9,18 \pm 0,682 ^c	<0,0001
Lechones nacidos muertos	0,85 \pm 0,098	0,86 \pm 0,085	0,83 \pm 0,101	0,79 \pm 0,150	0,41 \pm 0,270	0,6139

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas (P<0,05).

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

El número de lechones nacidos totales se redujo significativamente (P<0,0001) en función del porcentaje de participación en la cubrición del macho portador de la translocación. La reducción en el tamaño de camada se manifestó gradualmente a medida que el macho portador participaba con un mayor número de dosis en la cubrición, observándose diferencias significativas entre: a) cubriciones sin participación del macho o

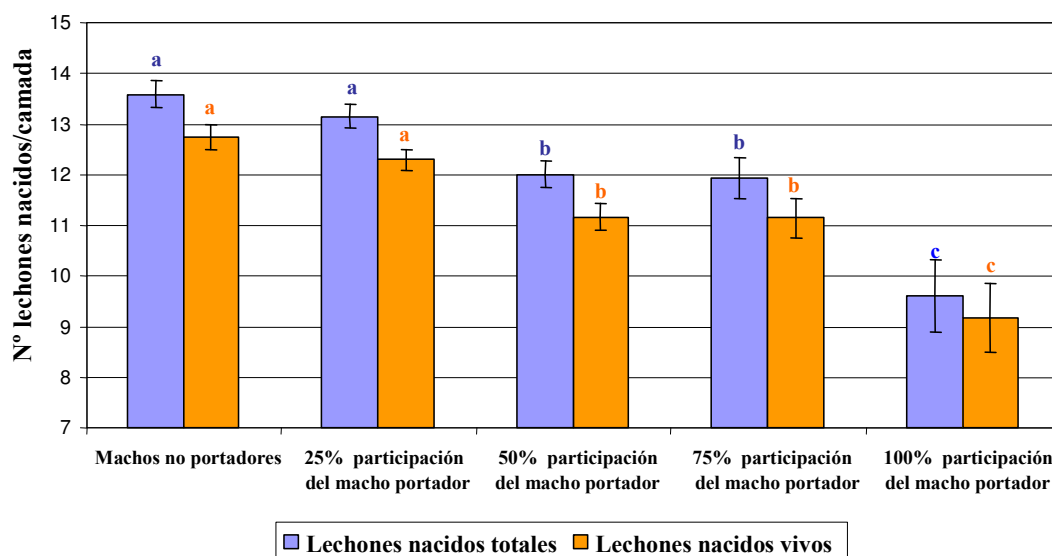
con un 25% de las dosis del macho portador, b) aquellas que participaba al 50 ó 75% y c) cuando únicamente se usaban dosis del macho portador (Figura 27). En las 22 camadas obtenidas de cubriciones en pureza con dosis seminales del macho portador se observó una reducción de 3,99 lechones nacidos totales menos respecto al dato obtenido en cubriciones con machos sin la alteración cromosómica (13,58 vs. 9,59 lechones totales).

En el número de lechones nacidos vivos por parto se observó también una reducción significativa ($P < 0,0001$) cuando se compara el grupo de cubriciones realizadas con dosis de machos normales o con el macho portador participando como máximo en el 25% de las dosis, y aquellas cubriciones con un 50 ó 75% de las dosis del macho portador (12,73 y 12,29 vs. 11,17 y 11,14 lechones). Por lo tanto la diferencia en el número de lechones nacidos vivos entre las camadas de machos de cariotipo normal, y aquellas en que la mitad de las dosis seminales habían sido del macho portador era de 1,56 lechones. Las 22 camadas resultantes en pureza de cubriciones realizadas únicamente con dosis seminales del macho portador (100% de participación), fueron las que presentaron significativamente el menor número de lechones nacidos vivos por camada (9,18 lechones) (Figura 27). En consecuencia, la diferencia entre el tamaño de las camadas generadas por cubriciones con machos con cariotipo normal y aquellas por el macho con la translocación fue de 3,55 lechones nacidos vivos menos.

El descenso de la prolificidad observada en este primer macho identificado portador de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$ fue de un 29,38%, respecto a la obtenida de machos contemporáneos con cariotipo normal.

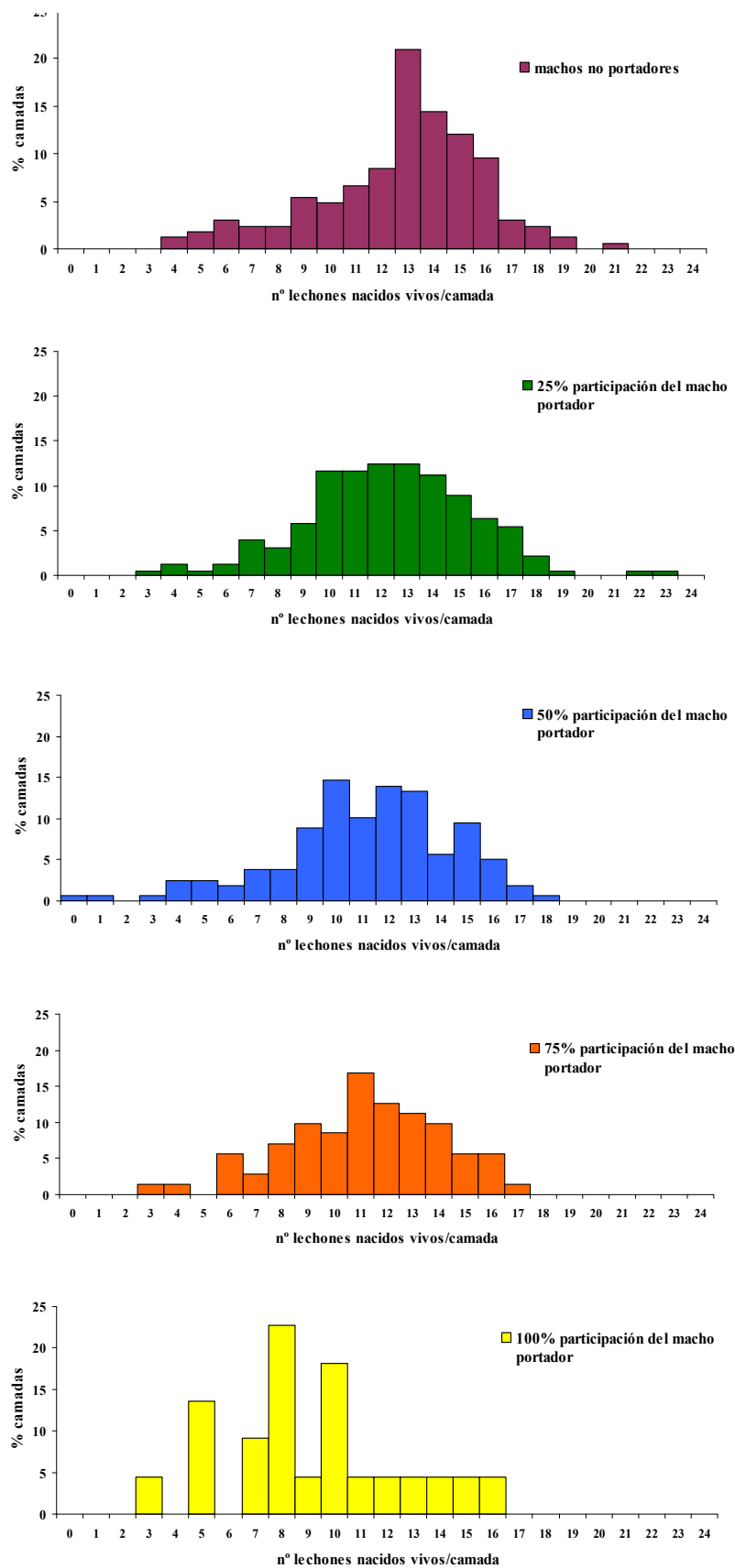
No se observaron diferencias significativas en el número de lechones nacidos muertos por parto entre las hembras inseminadas con diferente porcentaje de dosis del macho portador de la translocación y aquellas inseminadas con otros machos.

Figura 27: Influencia de la participación del verraco portador de la translocación sobre el número de lechones nacidos por parto. Letras diferentes en una misma línea indican diferencias significativas ($P < 0,05$).



Adicionalmente se estudió la distribución de frecuencias de los distintos tamaños de camadas (lechones nacidos vivos) obtenidos en función del porcentaje de participación del verraco portador de la translocación. En la Figura 28 se observa que a medida que aumenta la participación del macho portador en la cubrición se incrementa la frecuencia de tamaños de camada pequeños, y a su vez se obtienen menos camadas de tamaños grandes. El valor medio del tamaño de la camada se observa como va disminuyendo a medida que se cubre a las reproductoras con un mayor porcentaje de participación del verraco portador, y el error estándar aumenta debido a la disminución del número de réplicas.

Figura 28: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición.



Los resultados de fertilidad, en función de la participación del macho portador de la translocación se presentan en la Tabla 6. Se analizaron 523 cubriciones realizadas con diferentes porcentajes de participación del macho portador, no se encontraron diferencias significativas respecto a las cubriciones con dosis de machos de cariotipo normal ($P=0,6721$). Aunque no se encontraron diferencias significativas, los valores de fertilidad obtenidos en cubriciones con el macho portador en pureza (100%) son numéricamente inferiores a los obtenidos en cubriciones con machos con cariotipo normal (88% vs. 92,82%).

Tabla 6: Efecto sobre la fertilidad de la participación del verraco 1 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

	Machos no portadores	% Dosis del macho portador ¹				P-valor
		25	50	75	100	
Nº de cubriciones	181	250	174	74	25	
% fertilidad	92,82 \pm 2,064	90,4 \pm 1,756	91,38 \pm 2,105	94,59 \pm 3,228	88 \pm 5,553	0,6721

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

5.1.2. Resultados obtenidos con el verraco portador 2

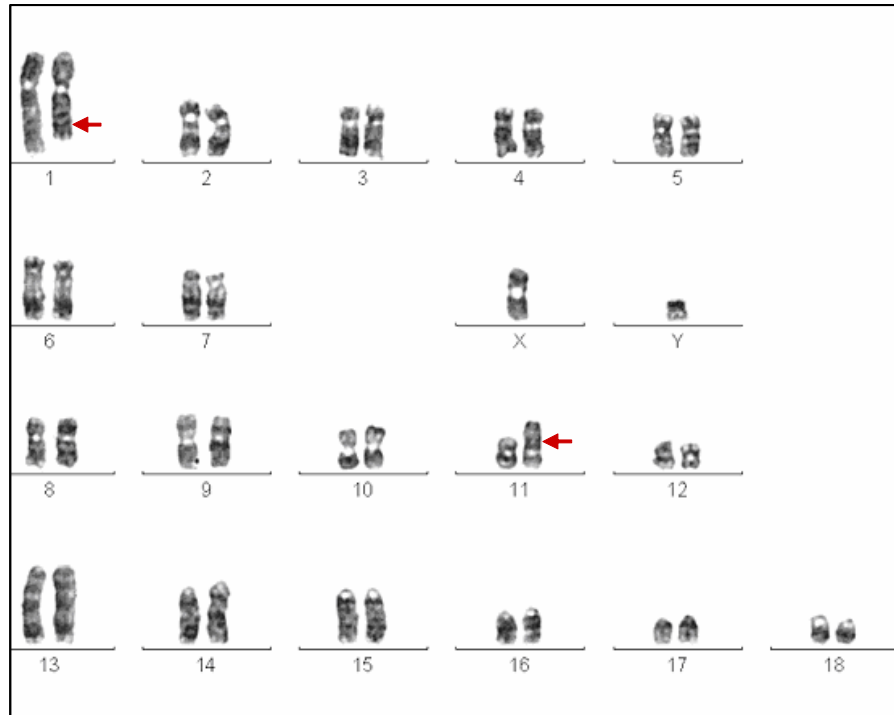
En la población A fue detectado un segundo verraco portador de la misma translocación recíproca $rcp(1;11)(q24;p13)$ que la descrita anteriormente. Presentaba también características fenotípicas normales. En el momento del análisis tenía 13 meses de edad y llevaba en el centro de inseminación 6 meses.

5.1.2.1. Análisis citogenético

El análisis del cariotipo determinó la presencia de la misma translocación recíproca que el verraco 1: $rcp(1;11)(q24;p13)$. La información genealógica obtenida permitió concretar los dos animales presentaban un abuelo en común. El análisis de todas las metafases obtenidas a partir del cultivo de linfocitos y el posterior bandeo G, reveló la

presencia de la alteración en todas sus células. El cariotipo resultante se muestra en la Figura 29.

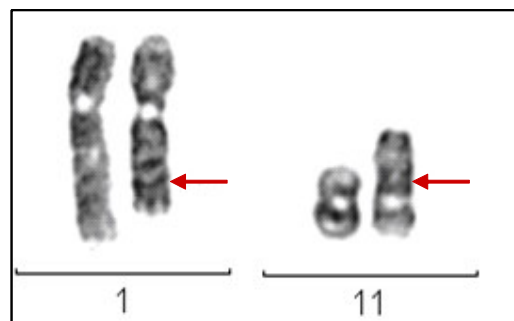
Figura 29. 29.A: Cariotipo de bandas G del verraco 2 de la población A, rcp(1;11)(q24;p13). 29.B: imagen de la metafase. 29.C: Detalle de la translocación. Los puntos de fragmentación están indicados con flechas.



29 A



29 B



29 C

5.1.2.2. Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador

El estudio reproductivo de este verraco se realizó con los resultados de las cubriciones realizadas en la misma explotación de reproductoras que en el caso del verraco anterior, aunque en un periodo de tiempo posterior. En total se realizaron 259 cubriciones en las que se utilizaron dosis seminales del verraco portador, y que se clasificaron en dos grupos en función del porcentaje de participación del verraco: 25 y 50% de la totalidad de las dosis seminales utilizadas por cubrición pertenecientes al verraco portador. Los resultados reproductivos se compararon con 121 cubriciones realizadas en la explotación de reproductoras en el mismo periodo de tiempo, pero con dosis seminales de los machos con el cariotipo normal (38, XY) del mismo centro de inseminación.

Los resultados del estudio de la participación del verraco portador de la translocación sobre los datos reproductivos se presentan en la Tabla 7. Los datos fueron comparados con los obtenidos en verracos con cariotipo normal.

El número de lechones nacidos totales por camada mostró una marcada tendencia ($P=0,0587$) a reducirse cuando el macho portador participaba en el 25% de la cubrición, y parece que el descenso se incrementaba en aquellas camadas resultantes de cubriciones realizadas con el 50% de las dosis seminales del verraco portador. El número de lechones nacidos vivos por camada resultó ser significativamente menor cuando en la cubrición participaba el macho portador hasta en un 50% de las dosis ($P=0,0493$). El valor medio de lechones nacidos vivos descendió de 12,29 lechones nacidos vivos en las camadas de machos no portadores, a 11,41 y 11,25 lechones cuando el macho portador participaba al 25% ó 50% en la cubrición respectivamente. Por lo tanto, cuando el verraco 2 portador de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$ participaba en un 50% en las cubriciones producía un descenso de la prolificidad de un 7,55%, correspondiente a una disminución de la productividad en lechones nacidos vivos de un 8,46% (Figura 30).

Tabla 7: Influencia sobre el tamaño de camada de la participación del verraco 2 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

	Machos no portadores	% Dosis del macho portador ¹		P-valor
		25	50	
N° de camadas	109	185	51	
Lechones nacidos totales	13,38 \pm 0,307	12,54 \pm 0,237	12,37 \pm 0,449	0,0587
Lechones nacidos vivos	12,29 \pm 0,310 ^a	11,41 \pm 0,239 ^b	11,25 \pm 0,454 ^b	0,0493
Lechones nacidos muertos	1,09 \pm 0,165	1,14 \pm 0,127	1,12 \pm 0,241	0,9761

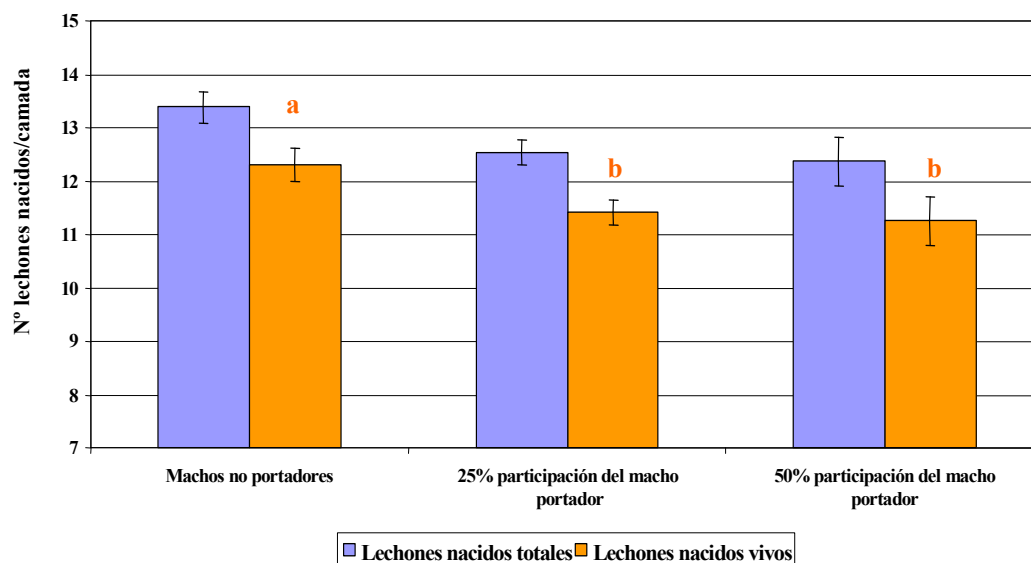
Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación

En el caso del número de lechones nacidos muertos por camada, igual que en el caso del verraco 1, tampoco se vio afectado con la participación creciente del macho portador en las cubriciones.

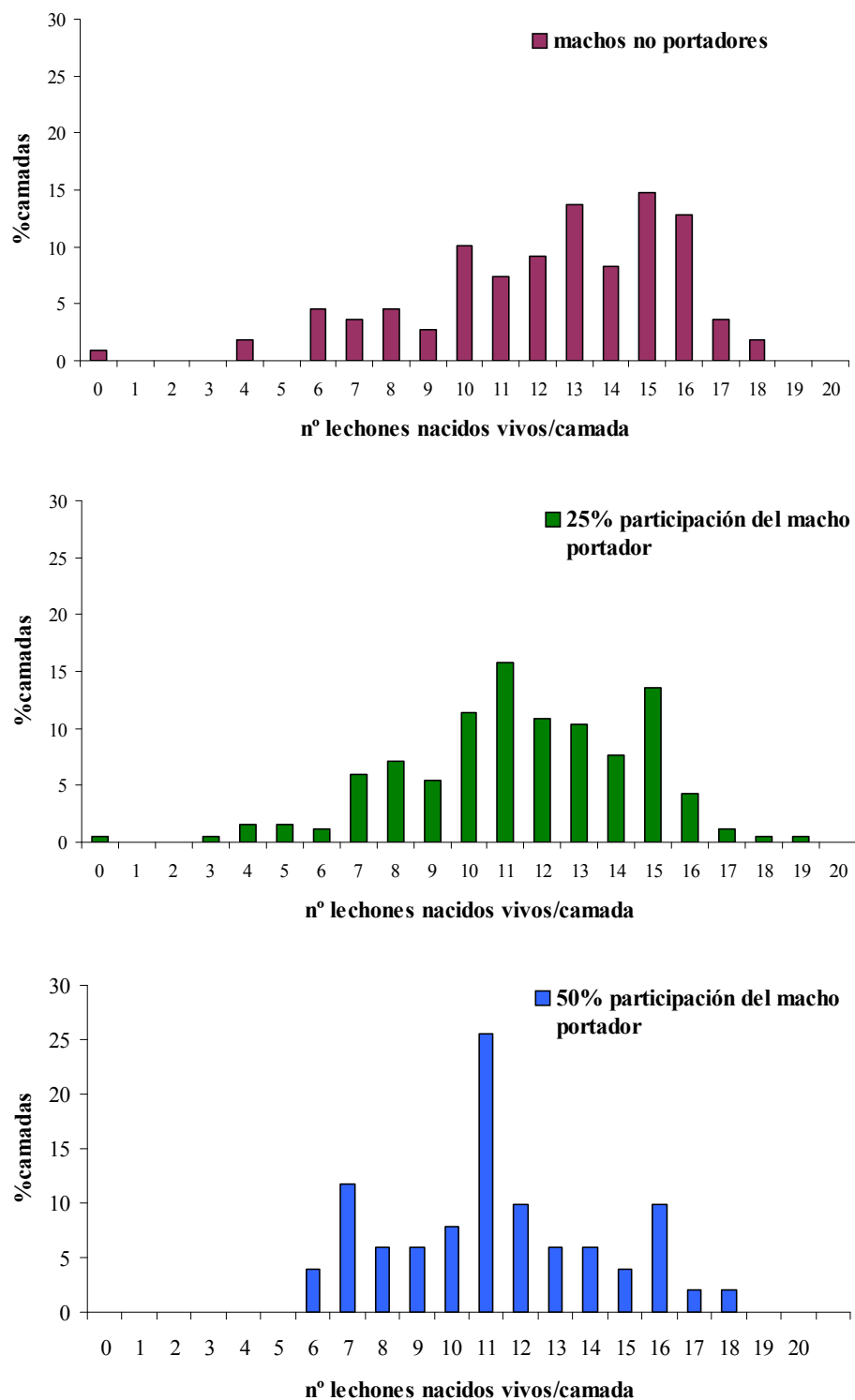
Además de los datos que se reflejan en la Tabla 7, se obtuvieron cuatro camadas resultantes de cubriciones con un porcentaje de participación de dosis del verraco portador de un 75%. Aunque no pudieron ser analizadas estadísticamente a causa del reducido número de réplicas, los valores medios del tamaño de las camadas fue de 9 lechones nacidos vivos, 3,50 nacidos muertos y 12,5 nacidos totales, indicando un descenso importante de los lechones nacidos vivos y un incremento en los lechones nacidos muertos respecto a los machos contemporáneos.

Figura 30: Influencia de la participación del macho portador de la translocación sobre el número de lechones nacidos por parto. Letras diferentes en un mismo color indican diferencias significativas ($P < 0,05$).



El análisis de las frecuencias de los tamaños de camada (lechones nacidos vivos), en función de la participación o no del macho portador se refleja en la Figura 31. A medida que el verraco portador participa con más dosis en la cubrición, se observa un aumento de la frecuencia de camadas con un tamaño por debajo de la media, y una menor frecuencia de camadas con tamaño por encima de la media.

Figura 31: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición.



En la Tabla 8 se refleja el análisis de los porcentajes de fertilidad obtenidos en las 259 cubriciones con el verraco portador en comparación con las cubriciones con machos de cariotipo normal (121 cubriciones). El porcentaje medio de fertilidad fue de un 91,74% en las cubriciones realizadas sin el macho portador, de un 92,57% de fertilidad cuando el macho participaba en la cubrición en un 25% y de 89,47% cuando lo hacía en un 50%. Este descenso numérico de la tasa de fertilidad no llegó a ser estadísticamente significativo ($P=0,7815$).

Tabla 8: Efecto sobre la fertilidad de la participación del verraco 2 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

	Machos no portadores	% Dosis del macho portador ¹		P-valor
		25	50	
Nº de cubriciones	121	202	57	
% fertilidad	91,74 \pm 2,496	92,57 \pm 1,932	89,47 \pm 3,637	0,7815

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

5.1.3. Apreciación de la viabilidad post-parto de los lechones nacidos de los verracos 1 y 2.

El número de lechones destetados por parto no pudo cuantificarse, por realizar la explotación manejos de adopción entre camadas. No obstante se pudo apreciar una elevada mortalidad post-parto de lechones, en aquellas hembras que habían sido inseminadas con alguna dosis seminal de los verracos portadores de la translocación. Este incremento de la mortalidad, se debía a la presencia de varias malformaciones en los lechones nacidos vivos. Entre éstas se observaron lechones débiles con dificultad para amamantarse, apreciándose las siguientes malformaciones (Figura 32): fisuras palatinas, ascitis, testículos con hidroceles y malformaciones de aplomos en los miembros anteriores. En general, aunque los lechones nacieran vivos eran poco viables y morían en las primeras 24-48 horas después del parto. La elevada mortalidad de lechones nacidos con malformaciones, era más acusada a medida que

se inseminaba con un mayor porcentaje de dosis de los verracos portadores de la translocación.

Figura 32: Lechones nacidos de las camadas de los verracos 1 y 2. 32.1: Lechones débiles. 32.2: Fisura palatina. 32.3: Malformaciones de aplomos en los miembros anteriores.



5.1.4. Estudio de la calidad espermática de los verracos portadores de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$.

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos de los parámetros espermáticos de los eyaculados de ambos verracos portadores. Estos datos se compararon con los obtenidos del resto de verracos contemporáneos de la misma raza y con el cariotipo normal

del centro de inseminación. Se obtuvieron datos de 66 eyaculados del verraco 1, 24 del verraco 2 y 61 en el caso de los verracos con cariotipo normal. La edad de los animales en el periodo en que fueron efectuadas las recogidas seminales fue de:

- Los 27 a 40 meses en el caso del verraco 1.
- De los 8 a los 13 meses para el verraco 2.
- De los 8 a los 40 meses en el caso de los verracos contemporáneos.

Tabla 9: Influencia de la presencia de la translocación recíproca en los verracos 1 y 2 sobre la calidad espermática (media \pm error estándar de la media).

Parámetros espermáticos	Verracos cariotipo normal	Portadores de la translocación rcp(1;11)(q24;p13)		P-valor
		Verraco 1	Verraco 2	
Nº de recogidas seminales	61	66	24	
Volumen de eyaculado (ml)	155,33 \pm 5,043 ^a	132,15 \pm 4,885 ^b	115,42 \pm 8,040 ^b	<0,0001
Motilidad (%)	83,93 \pm 0,313 ^a	82,97 \pm 0,306 ^b	84,17 \pm 0,500 ^a	0,0390
Concentración espermática (espermatozoides $\times 10^6$ /ml)	334,59 \pm 14,227 ^a	454,61 \pm 13,782 ^b	260,42 \pm 22,682 ^c	<0,0001
Número de espermatozoides por eyaculado ($\times 10^9$)	52,7 \pm 3,198 ^a	62,4 \pm 3,098 ^b	31,03 \pm 5,099 ^c	<0,0001
Acrosomas normales (%) ¹	77,58 \pm 1,369	75,78 \pm 1,087	83,33 \pm 3,011	0,0600
Colas en látigo (%)	8,63 \pm 0,911 ^{ab}	10,36 \pm 0,882 ^a	5,97 \pm 1,452 ^b	0,0345
Gota citoplasmática proximal (%)	2,52 \pm 0,481 ^a	5,10 \pm 0,459 ^b	3,81 \pm 0,777 ^{ab}	0,0008
Gota Citoplasmática distal (%)	10,91 \pm 1,180 ^a	18,07 \pm 1,152 ^b	5,11 \pm 1,881 ^c	<0,0001

a, b, c: Superíndices diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹ Parámetro valorado en 29 recogidas seminales en el caso de los verracos de cariotipo normal, 48 recogidas para el verraco 1 y 6 recogidas para el verraco 2.

Los resultados obtenidos indican que los machos portadores de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) presentaron una reducción significativa del volumen de eyaculado respecto a los machos con cariotipo normal. La concentración espermática difería entre ambos verracos con la translocación, siendo menor en el verraco 2 y mayor en el verraco 1 respecto a los machos con cariotipo normal (260,42 vs. 454,61 y vs. 334,59 espermatozoides/ml, $P < 0,0001$). Así el número total de espermatozoides por eyaculado también mostró las mismas diferencias, correspondiendo el valor más elevado al verraco 1, y el menor al verraco 2, mostrando los machos contemporáneos un número de

espermatozoides por eyaculado con un valor intermedio ($62,4 \times 10^9$ vs. $31,03 \times 10^9$ y vs. $52,7 \times 10^9$ respectivamente, $P < 0,0001$).

Los parámetros espermáticos cualitativos del verraco 1 portador de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$ presentaron diferencias respecto a los machos con cariotipo normal, y también respecto a los obtenidos en el verraco 2 portador de la misma translocación. El porcentaje de motilidad de los espermatozoides fue significativamente menor en el verraco 1 que en el verraco 2, que no mostró diferencias significativas con los verracos contemporáneos ($82,97\%$ vs. $84,17\%$ y vs. $83,93\%$, $P = 0,0390$). La presencia de gota citoplasmática proximal fue mayor en el verraco portador 1 que en los verracos contemporáneos ($5,10\%$ vs. $2,52\%$, $P = 0,0008$), pero este porcentaje no fue diferente al encontrado en el verraco 2 ($3,81\%$) que presentó valores similares a los verracos con cariotipo normal. El porcentaje de gota citoplasmática distal en los espermatozoides fue significativamente mayor en el verraco portador 1 que en los verracos con cariotipo normal ($18,07\%$ vs. $10,91\%$, $P < 0,0001$), siendo el verraco 2 el que presentó el menor porcentaje de esta morfoanomalía ($5,11\%$). El porcentaje de colas en látigo observado en el verraco 1 fue significativamente mayor que el del verraco 2, pero ambos fueron similares a los obtenidos en los machos contemporáneos ($10,36\%$ vs. $5,97\%$, y vs. $8,63\%$, $P = 0,0345$).

5.2. Resultados de la población B

A continuación se presentan los resultados obtenidos con el estudio de una segunda población de verracos, la cual estaba formada por 31 machos de raza Duroc localizados en un centro de inseminación. Los datos reproductivos obtenidos fueron de dos explotaciones de reproductoras donde se destinaban las dosis seminales de dichos animales.

Se confirmó que tres reproductores eran heterocigotos para una translocación cromosómica recíproca. Dos de ellos eran hermanos de camada y eran portadores de la misma translocación (verracos 3 y 4), y el tercero presentaba otra translocación (verraco 5). Los progenitores de los tres verracos habían sido sacrificados en el momento en que se realizó este estudio, y por lo tanto no se pudo analizar el origen de la translocación. En el estudio previo de los datos reproductivos de los verracos que se realizó en esta población, los tres animales portadores de translocación presentaban una frecuencia elevada de

camadas con tamaños menores 7 lechones nacidos vivos, y por lo tanto fueron considerados como sospechosos de presentar alteraciones citogenéticas.

Los tres machos identificados portadores de una translocación recíproca, se encontraban en servicio en el centro de inseminación en el momento del análisis. Las dosis seminales de los verracos 4 y 5 se habían distribuido a dos explotaciones de reproductoras, denominadas como explotación 1 y 2, mientras que las dosis seminales del verraco 3 únicamente a la explotación 2. A continuación se presentan los resultados del análisis citogenético de los verracos, del estudio de los parámetros reproductivos obtenidos en las explotaciones de reproductoras citadas anteriormente, y del estudio de la calidad espermática.

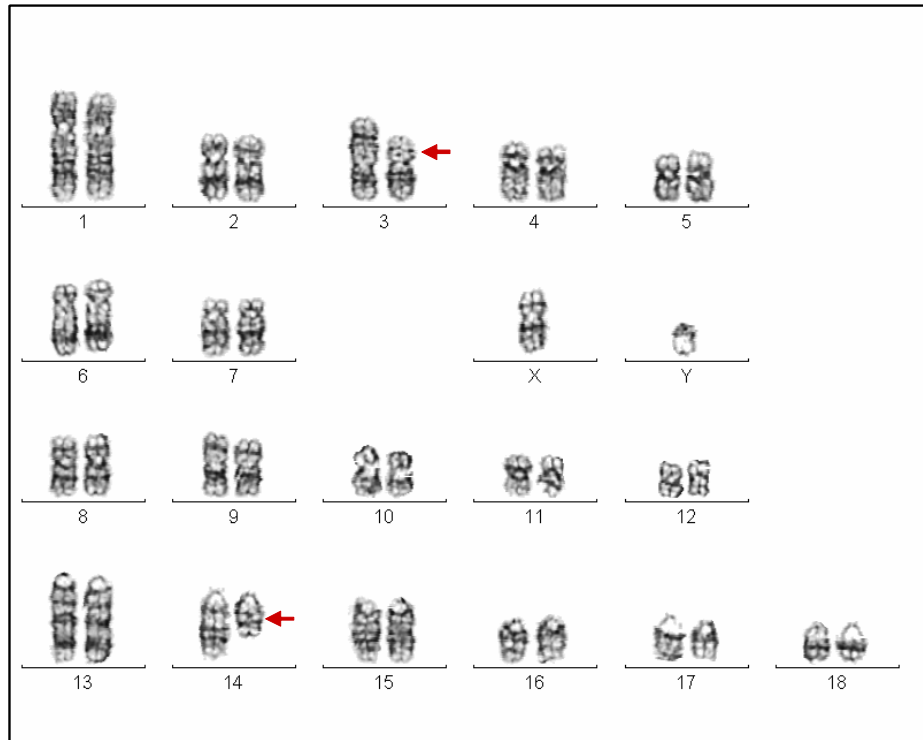
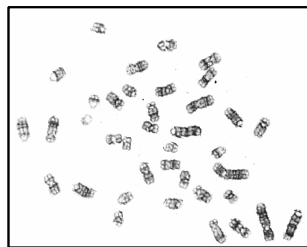
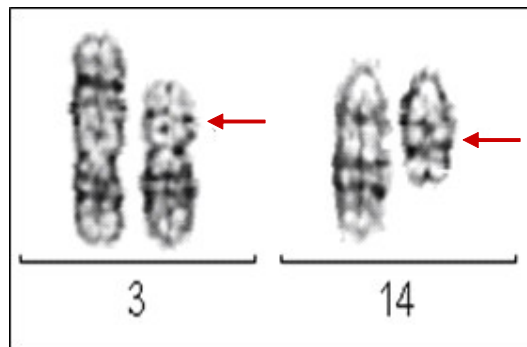
5.2.1. Resultados obtenidos con el verraco portador 3

Este reproductor llevaba 12 meses en el centro de inseminación y contaba con 23 meses de edad en el momento del análisis de cariotipo. Asimismo presentaba un fenotipo completamente normal.

5.2.1.1. Análisis citogenético

El complemento cromosómico de este macho era normal $2n=38$. Sin embargo en todas las células analizadas aparecía un cromosoma submetacéntrico de longitud intermedia entre la del cromosoma 1 y 2, faltando un homólogo del par cromosómico 3. A su vez entre los cromosomas acrocéntricos aparecía un acrocéntrico de longitud similar al par cromosómico 16 y únicamente un cromosoma del par 14. El bandeo G permitió determinar que se trataba de una translocación cromosómica recíproca entre el cromosoma 14 y el 3. En la Figura 33 se muestra el cariotipo, la imagen de la metafase y el detalle de los puntos de fragmentación de los cromosomas del verraco 3. La translocación identificada en este verraco fue: $recp(3;14)(p14;q23)$.

Figura 33. 33.A: Cariotipo de bandas G del verraco 3 de la población B, rcp(3;14)(p14;q23). 33.B: imagen de la metafase. 33.C: Detalle de la translocación. Los puntos de fragmentación están indicados con flechas.

**33 A****33 B****33 C**

5.2.1.2. Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador

Las dosis seminales de este verraco fueron distribuidas a una única explotación de reproductoras (explotación 2), en la que se analizó el efecto de la translocación sobre los parámetros reproductivos. El efecto sobre la prolificidad y fertilidad del uso de las dosis seminales procedentes del verraco portador de la translocación se estudiaron en un total de 107 cubriciones aplicando dos dosis seminales por cubrición, de las cuales una procedía del macho portador y la otra de un macho con cariotipo normal (50% de participación del macho). Únicamente se realizaron 18 cubriciones en las que las dos dosis seminales por cubrición pertenecían al macho portador (100% de participación), de las cuales solamente una cerda llegó a parto obteniéndose 6 lechones nacidos totales y todos vivos.

El efecto de la participación del macho portador al 50% en la cubrición sobre el tamaño de camada se refleja en la Tabla 10. Los datos obtenidos corresponden a un periodo de cuatro meses, en que se obtuvieron 57 camadas con participación del macho en la cubrición y 809 camadas de otros machos del centro de inseminación con el cariotipo normal.

Tabla 10: Influencia sobre el tamaño de camada de la participación del verraco 3 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

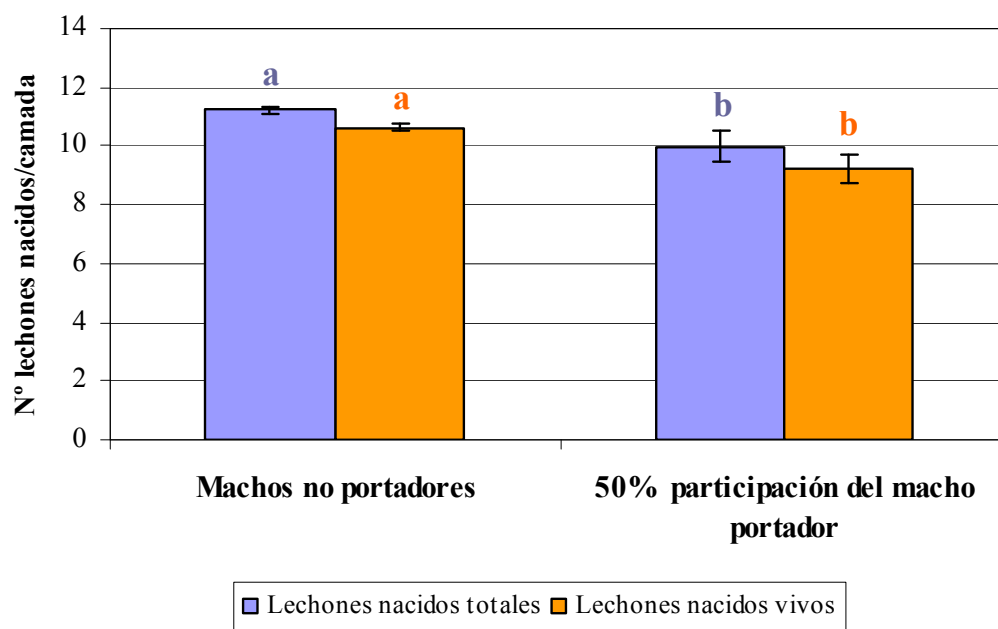
Explotación 2			
	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador ¹	P-valor
Nº de camadas	809	57	
Lechones nacidos totales	11,23 \pm 0,137 ^a	9,98 \pm 0,516 ^b	0,0195
Lechones nacidos vivos	10,62 \pm 0,128 ^a	9,23 \pm 0,481 ^b	0,0054
Lechones nacidos muertos	0,61 \pm 0,041	0,75 \pm 0,155	0,3846

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

En la explotación 2 las hembras inseminadas con dosis del macho portador tuvieron una reducción significativa del número de lechones nacidos totales ($P<0,0195$) y de nacidos vivos ($P=0,0054$) por camada (Figura 34). El número de lechones nacidos totales se redujo de 11,23 a 9,98 lechones al utilizar dosis seminales del macho portador en las cubriciones ($P=0,0195$). Asimismo se observó una reducción de 1,39 lechones nacidos vivos al participar el macho portador en el 50% de la cubrición, lo que supone una reducción del 13.08% de lechones nacidos vivos en la explotación. Por lo tanto, en cubriciones con una participación del 50% del verraco 3 portador de la translocación se produjo una disminución en la prolificidad del 11,13%.

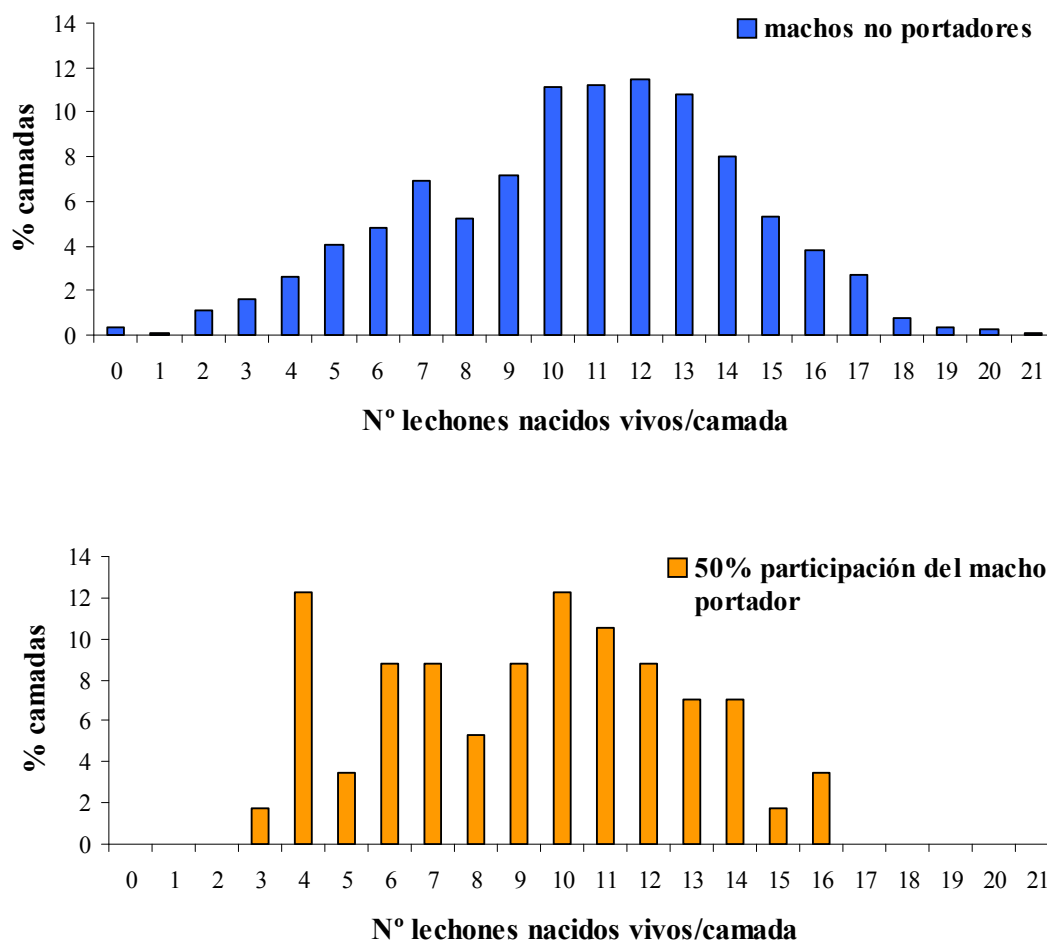
Figura 34: Comparación del número de lechones nacidos por parto según el macho utilizado en las cubriciones. Letras diferentes en un mismo color indican diferencias significativas ($P<0,05$).



Los histogramas de frecuencias de los tamaños de camadas (lechones nacidos vivos) en función de la participación o no del macho portador de la translocación en la explotación 2 se reflejan en la Figura 35. Se observa que la participación del macho portador en la

cubrición incrementa el porcentaje de camadas de tamaño reducido (entre 4 y 9 lechones), y disminuye el de camadas de más de 11 lechones nacidos vivos.

Figura 35: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición.



En la Tabla 11 se refleja el efecto sobre la fertilidad de la participación del macho portador en las cubriciones. Se observó una reducción importante de la fertilidad ($P=0,0001$), obteniéndose un 75,56% cuando participaban en la cubrición machos de cariotipo normal y un 55,14% cuando la cubrición se realizaba con alguna dosis seminal del macho portador (Figura 36). Por lo tanto el descenso medio en la tasa de fertilidad cuando participaba el macho en las cubriciones fue de un 20,42%.

Tabla 11: Efecto sobre la fertilidad de la participación del verraco 3 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

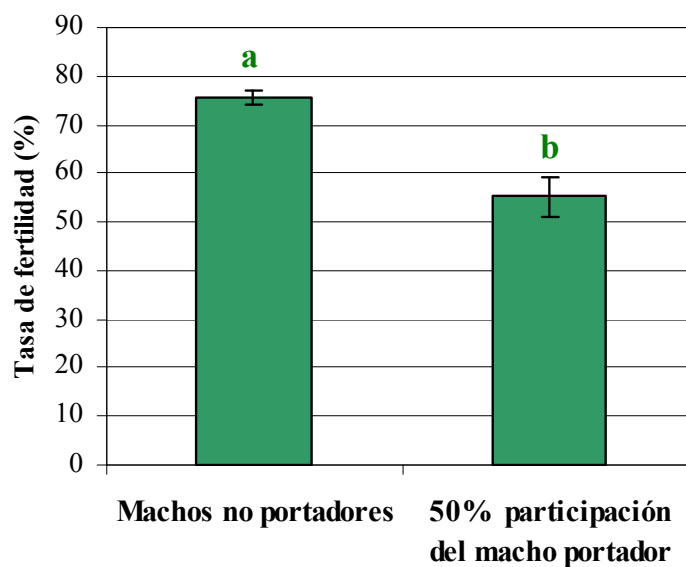
Explotación 2

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador¹	P-valor
Nº de cubriciones	1105	107	
% fertilidad	75,56 \pm 1.313 ^a	55,14 \pm 4,219 ^b	0,0001

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

Figura 36: Comparación de la tasa de fertilidad según el macho utilizado en las cubriciones. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$).



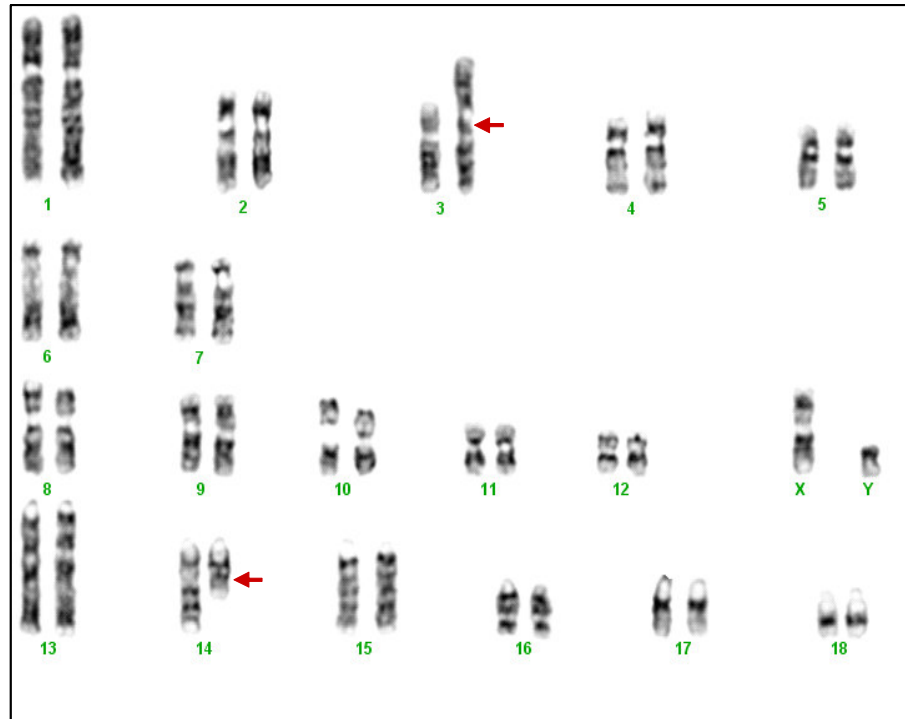
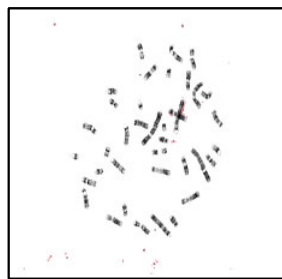
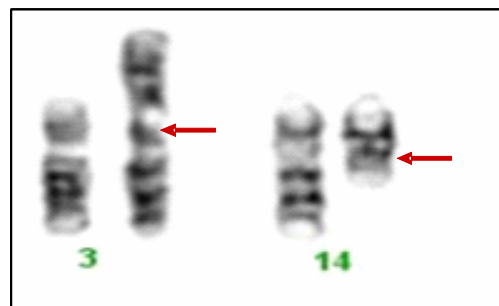
5.2.2. Resultados obtenidos con el verraco portador 4

El análisis citogenético en este verraco se realizó cuando tenía 23 meses de edad y llevaba 1 año en el centro de inseminación. Las características fenotípicas del verraco también eran normales.

5.2.2.1. Análisis citogenético

El análisis citogenético determinó que este animal era portador de la misma translocación recíproca detectada en el verraco 3 anteriormente descrito, $rcp(3;14)(p14;q23)$. Ambos verracos resultaron ser hermanos de la misma camada, por tanto la translocación debió ser heredada de uno de los progenitores. No se pudo realizar el análisis citogenético de los progenitores impidiéndose comprobar la heredabilidad de la translocación. El cariotipo y el detalle de la translocación se muestran en la Figura 37.

Figura 37: 37.A: Cariotipo de bandas G del verraco 4 de la población B, rcp(3;14)(p14;q23). 37.B: imagen de la metafase. 37.C: Detalle de la translocación. Los puntos de fragmentación están indicados con flechas.

**37 A****37 B****37 C**

5.2.2.2. Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador

El estudio reproductivo de este verraco se realizó a partir de los datos de cubriciones registrados en las dos explotaciones de reproductoras (explotación 1 y 2). En total se obtuvieron los datos reproductivos de 195 cubriciones en la explotación 1 y 216 en la 2 con un 50% de participación del macho portador, ya que de las dos dosis aplicadas en cada cubrición una de ellas pertenecía a dicho verraco. Los datos obtenidos en cada explotación se compararon con cubriciones realizadas durante el mismo periodo de tiempo, con dosis seminales de machos controlados del mismo centro de inseminación con cariotipo normal. En la explotación 2 se obtuvieron además los resultados de 17 cubriciones realizadas al 100% con el macho portador.

El efecto sobre el tamaño de camada de la participación del macho portador en la cubrición se muestra en la Tabla 12. En ambas explotaciones el número de lechones nacidos totales y el número de nacidos vivos resultó ser significativamente menor cuando el macho portador participaba al 50% en la cubrición (Figura 38). En la explotación 1 se comparó el efecto del macho portador sobre la prolificidad en 137 camadas, frente a 756 camadas de hembras inseminadas con otros machos contemporáneos de cariotipo normal. Los datos obtenidos cuando el macho portador participaba en la cubrición en un 50% mostraron una reducción significativa de los lechones nacidos totales por camada (11,23 vs. 10,10 lechones, $P=0,0035$). Por lo tanto la disminución de la prolificidad fue de un 10,06%. El número de lechones nacidos vivos por parto se redujo significativamente en 0,91 lechones ($P=0,0122$), lo que suponía una reducción del 8,72%. El número de lechones nacidos muertos por parto también fue menor (0,80 vs. 0,57 lechones nacidos muertos, $P=0,0369$).

Tabla 12: Influencia sobre el tamaño de camada de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 4 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

Explotación 1

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador¹	P-valor
Nº de camadas	756	137	
Lechones nacidos totales	11,23 \pm 0,151 ^a	10,10 \pm 0,354 ^b	0,0035
Lechones nacidos vivos	10,43 \pm 0,141 ^a	9,52 \pm 0,330 ^b	0,0122
Lechones nacidos muertos	0,80 \pm 0,042 ^a	0,57 \pm 0,099 ^b	0,0369

Explotación 2

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador¹	P-valor
Nº de camadas	1184	187	
Lechones nacidos totales	11,19 \pm 0,113 ^a	9,79 \pm 0,284 ^b	0,0001
Lechones nacidos vivos	10,63 \pm 0,106 ^a	9,3 \pm 0,266 ^b	0,0001
Lechones nacidos muertos	0,56 \pm 0,032	0,48 \pm 0,080	0,3693

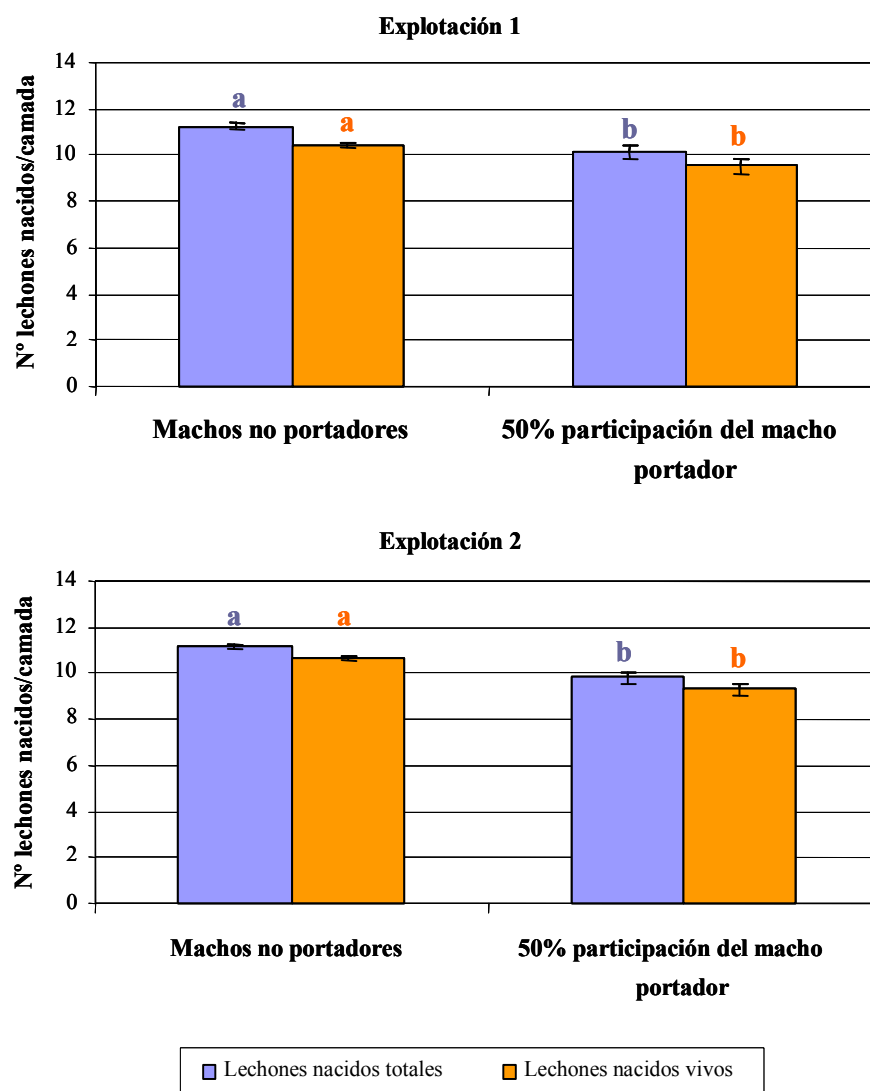
Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

Los resultados de prolificidad obtenidos en la explotación 2 durante el periodo en que se realizaron cubriciones con el verraco 4 portador de la translocación, también se observaron diferencias significativas respecto a los datos obtenidos en las cubriciones con machos de cariotipo normal (Figura 38). La media de lechones nacidos totales por camada fue significativamente menor en el caso de cubriciones al 50% con el macho portador (11,19

vs. 9,79 lechones totales, $P<0,0001$), suponiendo una reducción de un 12,51% en la prolificidad de esta explotación. La media de lechones nacidos vivos obtenidos por camada fue de 10,63 lechones cuando no participaba el macho en la cubrición, y de 9,3 lechones cuando participaba al 50% ($P<0,0001$).

Figura 38: Comparación del número de lechones nacidos por parto según el macho utilizado en las cubriciones. Letras diferentes en un mismo color indican diferencias significativas ($P<0,05$).



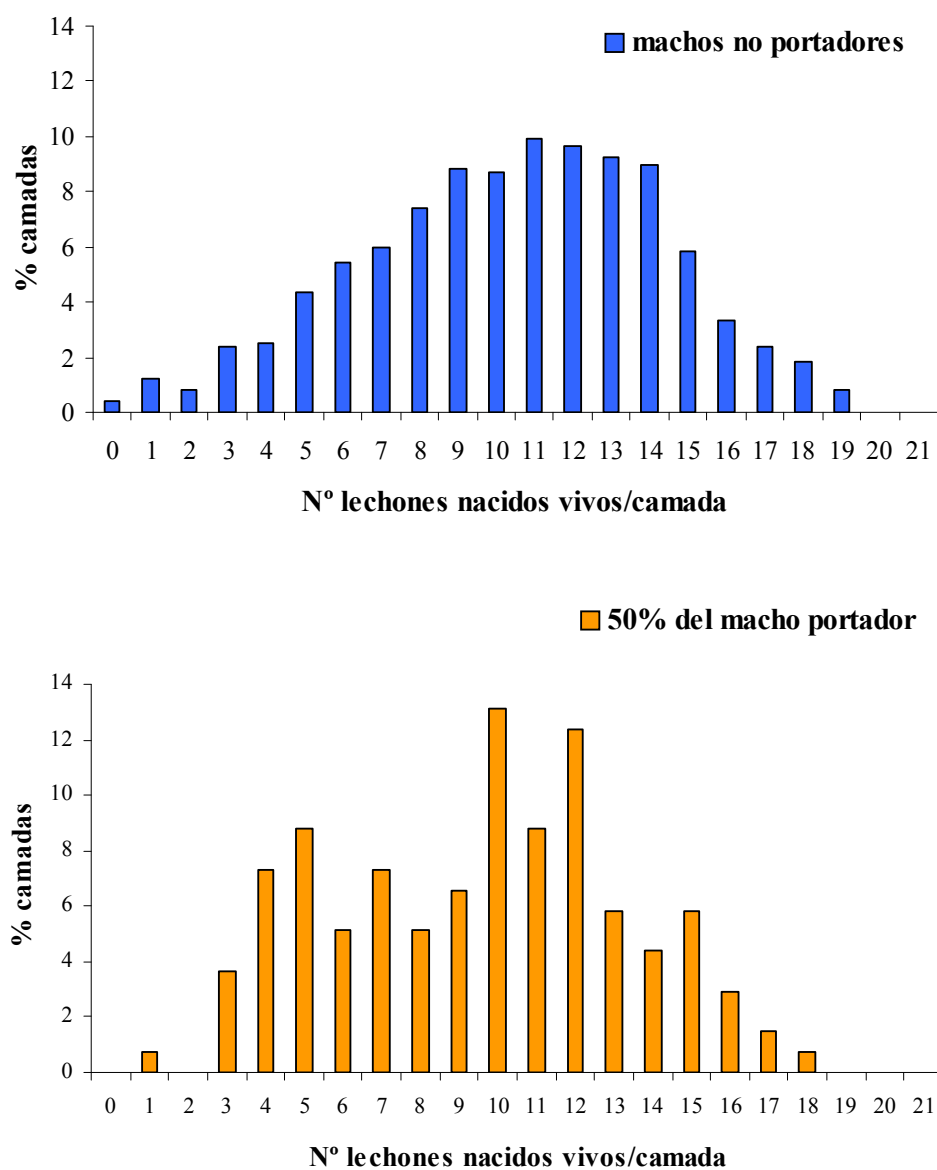
Por tanto la participación del verraco 4 portador de la translocación en las cubriciones de las explotaciones 1 y 2 produjo un descenso medio de la prolificidad del 11,28%.

En ninguna de las dos explotaciones hubo suficientes camadas obtenidas de hembras inseminadas exclusivamente con el verraco 4 portador de la translocación para incluirlas en el estudio estadístico. Sin embargo en la explotación 2 se obtuvieron seis camadas de hembras inseminadas en pureza con el verraco 4, en las que el número lechones nacidos totales fue de 9,50, los lechones nacidos vivos 8,67 y los lechones nacidos muertos 0,83, datos inferiores a los obtenidos cuando el verraco 4 participaba en un 50 % en la cubrición.

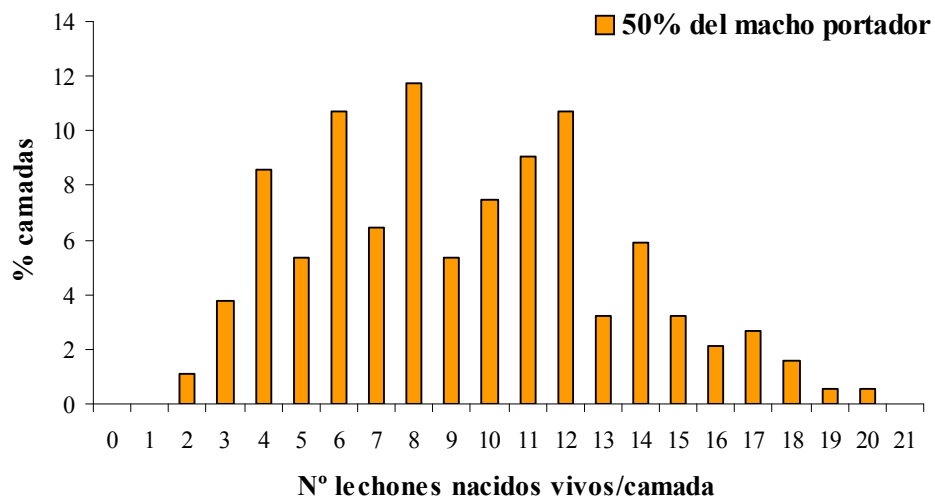
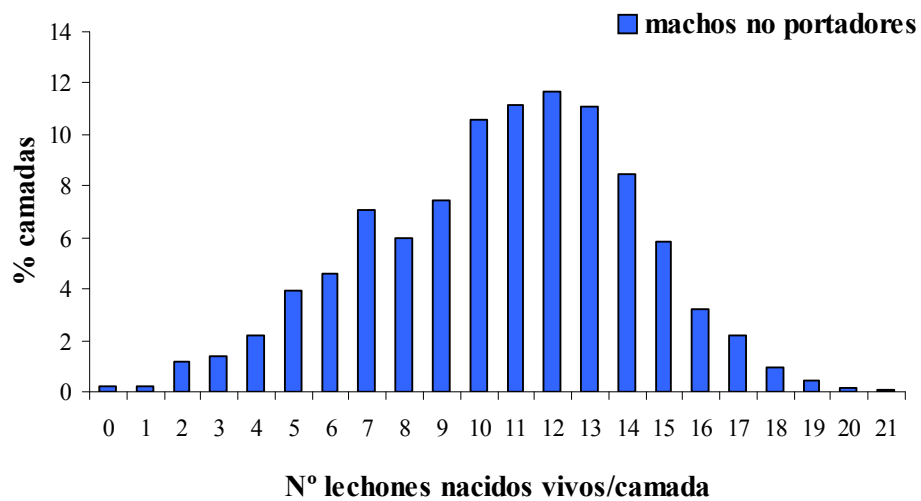
La Figura 39 representa el porcentaje de frecuencias de los diferentes tamaños de camada en función de la participación del macho portador de la translocación en la cubrición. En ambas explotaciones se puede observar mayor frecuencia de tamaños de camada más reducidos cuando se cubría al 50% con el macho portador que cuando se hacía con machos de cariotipo normal. Esta observación se hacer más evidente en el caso de la explotación 2 donde los tamaños de camada inferiores a 8 lechones nacidos vivos eran más frecuentes en las camadas del macho portador, mientras que los tamaños de camada entre 9 y 15 lechones eran más frecuentes cuando se cubría con dosis de machos de cariotipo normal.

Figura 39: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición.

Explotación 1



Explotación 2



Los resultados del estudio de la tasa de fertilidad obtenida en cubriciones con ambas dosis de machos de cariotipo normal o con una de las dosis del macho portador de la translocación se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13: Efecto sobre la fertilidad de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 4 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

Explotación 1

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador ¹	P-valor
Nº de cubriciones	1007	195	
% fertilidad	76,17 \pm 1,359	70,77 \pm 3,088	0,1255

Explotación 2

	Machos no portadores	% Dosis del macho portador ¹		P-valor
		50	100	
Nº de cubriciones	1583	293	17	
% fertilidad	77,13 \pm 1,080 ^a	65,53 \pm 2,511 ^b	35,29 \pm 10,426 ^c	0,0001

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

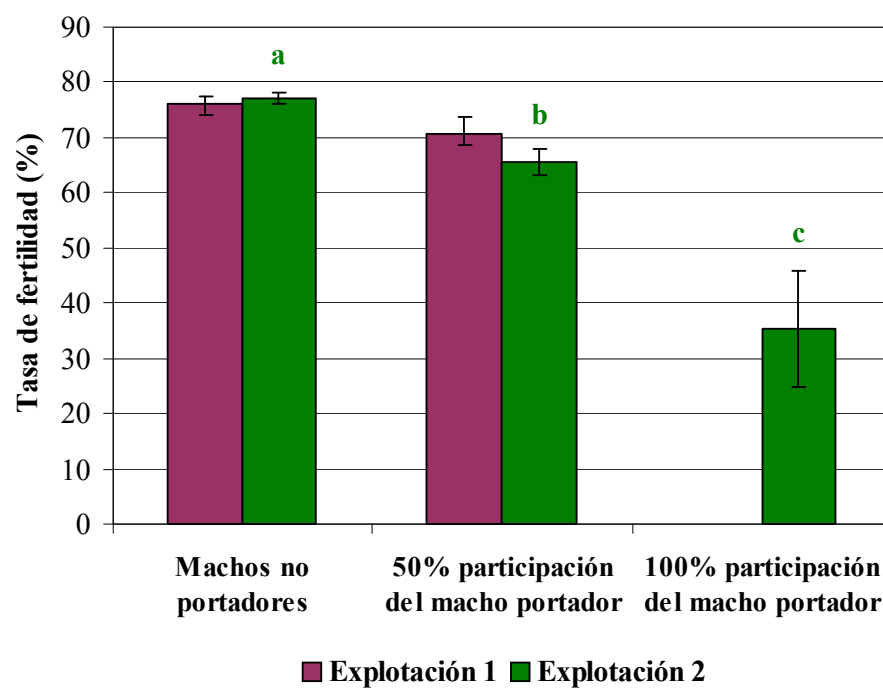
¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

En la explotación 1 no observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, aunque el valor medio de la tasa de fertilidad disminuyó en un 5,4% cuando las reproductoras eran cubiertas en un 50% con el macho portador respecto a las cubriciones con machos de cariotipo normal (70,77 vs. 76,17% respectivamente).

En la explotación 2 se obtuvieron datos de fertilidad de cubriciones realizadas con verracos de cariotipo normal, con un 50% de participación del macho portador y con un 100% de participación del macho portador. Se observaron diferencias significativas entre los tres grupos analizados sobre la tasa de fertilidad ($P < 0,0001$), el valor medio de fertilidad fue

del 77,13% cuando se cubría con machos de cariotipo normal, un 65,53% cuando una de las dosis aplicadas era del macho portador, y un 35,29% cuando ambas dosis seminales pertenecían del macho portador. Por tanto, la reducción del porcentaje de fertilidad cuando el verraco 4 participaba en pureza en la cubrición respecto a las cubriciones con machos de cariotipo normal fue de un 41,84% (Figura 40).

Figura 40: Influencia sobre la tasa de fertilidad del porcentaje de participación del verraco 4 portador de la translocación. Letras diferentes en un mismo color indican diferencias significativas ($P<0,05$).



5.2.3. Estudio de la calidad espermática de los verracos portadores de la translocación rcp (3;14)(p14;q23)

La calidad espermática de ambos animales portadores de la translocación rcp(3;14)(p14;q23) se estudió en un total de 48 eyaculados en el caso del verraco 3 y 53 eyaculados en el verraco 4. Los resultados obtenidos fueron comparados con verracos contemporáneos de la misma raza presentes en el centro de inseminación, y que no presentaban alteraciones cromosómicas. El periodo durante el que fueron efectuadas las recogidas seminales se correspondió al intervalo de edad de los verracos entre los 23 y 35 meses de vida.

En la Tabla 14 se presentan los resultados obtenidos de la influencia sobre los parámetros espermáticos de verracos portadores de la translocación rcp(3;14)(p14;q23).

El volumen de eyaculado de los verracos portadores 3 y 4 resultó ser inferior que el de los animales con cariotipo normal, (188,83 vs. 217,33 y vs. 245,99 ml respectivamente, $P<0,0001$). Asimismo, la concentración espermática difería entre los animales con cariotipo normal y los portadores de la translocación, siendo menor en los últimos (292,83 vs. 214,83 y 231,89 espermatozoides $\times 10^6/\text{ml}$). Por tanto, el número de espermatozoides por eyaculado resultó ser menor en los machos portadores que en los animales contemporáneos ($41,22 \times 10^9$ vs. $50,92 \times 10^9$ y $71,87 \times 10^9$, $P<0,0001$). Entre ambos verracos portadores de la translocación también aparecieron diferencias significativas, y así se observó que el verraco 3 presentaba menor volumen de eyaculado, aunque la concentración espermática y el número de espermatozoides totales por eyaculado fue similar entre ambos animales.

El porcentaje de motilidad de los espermatozoides de los verracos portadores de la translocación no fue menor que el de los verracos contemporáneos con cariotipo normal. En el verraco 3, incluso se observó un porcentaje de motilidad mayor que en los verracos con cariotipo normal.

En el resto de parámetros analizados, (porcentaje de acrosomas anormales, de colas en látigo o de gotas citoplasmáticas) no se observaron diferencias entre los dos animales portadores de la translocación y los contemporáneos con cariotipo normal, encontrándose los valores dentro de los límites normales.

Tabla 14: Influencia de la presencia de la translocación recíproca en los verracos 3 y 4 sobre la calidad espermática (media \pm error estándar de la media).

Parámetros espermáticos	Verracos cariotipo normal	Portadores de la translocación rcp(3;14)(p14;q23)		P-valor
		Verraco 3	Verraco 4	
Nº de recogidas seminales	720	48	53	
Volumen de eyaculado (ml)	245,99 \pm 1,955 ^a	188,83 \pm 7,571 ^b	218,34 \pm 7,205 ^c	<0,0001
Motilidad (%)	67,69 \pm 0,461 ^a	73,72 \pm 1,802 ^b	69,62 \pm 1,697 ^{ab}	0,0037
Concentración espermática (espermatozoides $\times 10^6$ /ml)	292,83 \pm 4,034 ^a	214,58 \pm 15,625 ^b	231,89 \pm 14,870 ^b	<0,0001
Número de espermatozoides por eyaculado ($\times 10^9$)	71,87 \pm 1,124 ^a	41,22 \pm 4,353 ^b	50,92 \pm 4,143 ^b	<0,0001
Acrosomas normales (%) ¹	88,33 \pm 0,539	91,50 \pm 2,063	88,49 \pm 1,846	0,3315
Colas en látigo (%)	5,13 \pm 0,415	4,40 \pm 1,606	3,68 \pm 1,529	0,6100
Gota citoplasmática proximal (%)	1,47 \pm 0,166	1,46 \pm 0,644	1,88 \pm 0,612	0,8088
Gota Citoplasmática distal (%)	7,25 \pm 0,598	6,34 \pm 0,847	8,02 \pm 1,256	0,5864

a, b, c: Superíndices diferentes en una misma fila indican diferencias significativas (P<0,05).
¹ Parámetro valorado en 189 recogidas seminales en el caso de los verracos de cariotipo normal, 36 recogidas para el verraco 3 y 45 recogidas para el verraco 4.

5.2.4. Resultados obtenidos con el verraco portador 5

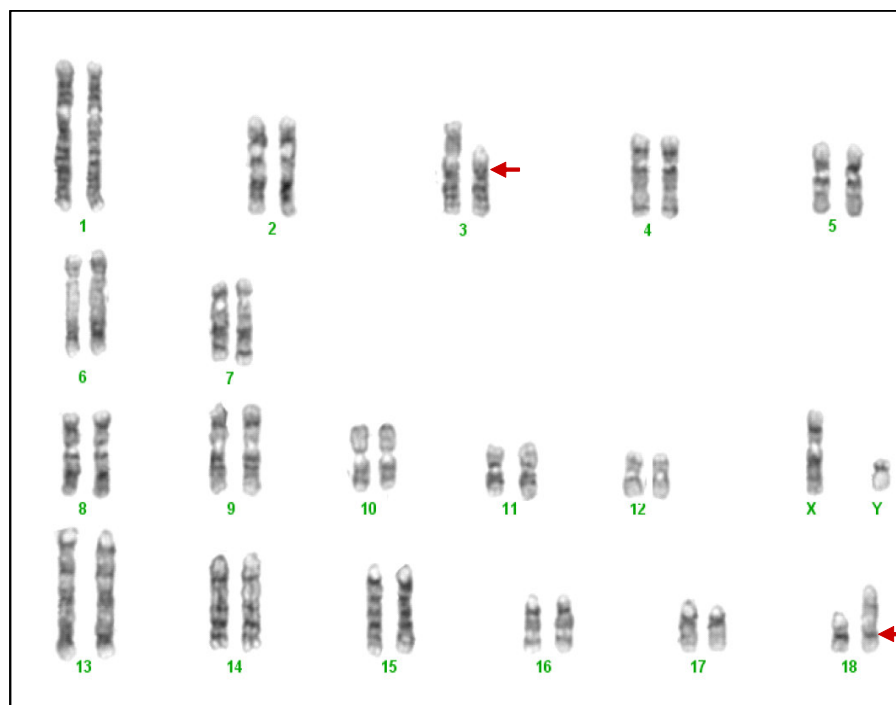
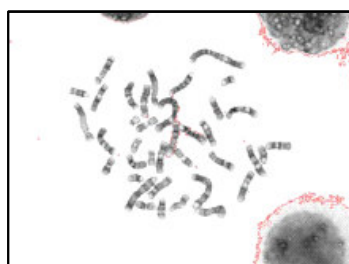
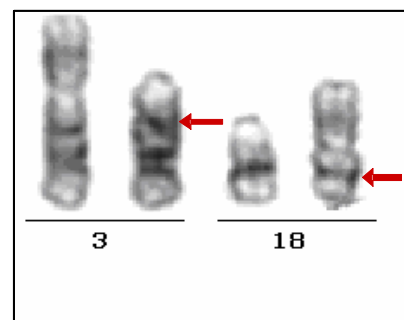
En la población B se identificó un tercer verraco de raza Duroc portador de una alteración cromosómica. Tenía 16 meses de edad en el momento del análisis citogenético y llevaba en el centro de inseminación 7 meses. Al igual que los otros verracos portadores de anomalías cromosómicas identificados en este estudio, presentaba características fenotípicas normales.

5.2.4.1. Análisis citogenético

El complemento cromosómico era normal $2n=38$. El análisis citogenético detallado reveló la presencia en todas las metafases analizadas de una translocación recíproca heterocigota entre los cromosomas número 3 y 18. Mediante el bandeo G se determinaron los lugares de fragmentación de los cromosomas que correspondieron al brazo q del cromosoma 3 en la banda positiva 14 y al brazo q del cromosoma 18 en la banda positiva 21.

Por lo tanto la translocación identificada fue rcp(3;18)(q14;q21). La Figura 41 muestra el cariotipo completo del verraco y el detalle de la translocación recíproca entre ambos cromosomas.

Figura 41: 41.A: Cariotipo de bandas G del verraco 5 de la población B, rcp(3;18)(q14;q21). 41.B: imagen de la metafase. 41.C: Detalle de la translocación. Los puntos de fragmentación están indicados con flechas.

**41 A****41 B****41 C**

5.2.4.2. Impacto en los resultados reproductivos del verraco portador

Las dosis seminales del verraco 5 hasta el momento del análisis citogenético habían sido destinadas las explotaciones de reproductoras 1 y 2. En total fueron utilizadas dosis seminales de este animal en un total de 83 cubriciones (35 en la explotación 1 y 48 en la 2). En las cubriciones realizadas con este verraco el porcentaje de participación en la cubrición fue del 50%, por lo que de las dos dosis seminales aplicadas por cubrición una de ellas pertenecía al verraco 5.

Los resultados de prolificidad obtenidos utilizando el 50% de las dosis seminales en cada cubrición del macho portador se presentan en la Tabla 15.

En las 27 camadas obtenidas del verraco 5 en la explotación 1 se observó un descenso significativo del número de lechones nacidos totales respecto a los datos de 105 camadas de los verracos contemporáneos (8,74 vs. 10,96 lechones, $P=0,0095$). El tamaño de camada en lechones nacidos vivos también disminuía ($P=0,0172$), obteniéndose un promedio de 9,91 lechones en camadas de machos con cariotipo normal y de 8,07 en camadas con participación del macho portador. En la explotación 1 se observó una reducción de la prolificidad de un 20,25% con inseminaciones realizadas al 50% de participación del macho portador.

En la explotación 2 se compararon los datos de 37 camadas en que el verraco portador participaba en el 50% de la cubrición, con los datos de 138 camadas de machos de cariotipo normal. El efecto adverso sobre la productividad fue menor que en la explotación 1. El número de lechones nacidos totales en las camadas obtenidas de hembras cubiertas con el verraco 5 presentó una marcada tendencia a disminuir (11,27 vs. 10,11; $P=0,0769$), lo que representó una disminución en la prolificidad del 10,29%. Únicamente se mostraron diferencias significativas ($P=0,0385$) en el número de lechones nacidos vivos con un descenso de 1,32 lechones nacidos vivos menos en el caso de camadas del macho portador (50% de participación). En la Figura 42 se representan los resultados de lechones nacidos vivos obtenidos por camada en ambas explotaciones.

Por tanto, la participación del verraco 5 portador de la translocación $rec(3;18)(q14;q21)$ produjo descenso medio del número de lechones nacidos vivos por camada de un 15,13% entre ambas explotaciones.

Tabla 15: Influencia sobre el tamaño de camada de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 5 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

Explotación 1

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador¹	P-valor
Nº de camadas	105	27	
Lechones nacidos totales	10,96 \pm 0,381 ^a	8,74 \pm 0,752 ^b	0,0095
Lechones nacidos vivos	9,91 \pm 0,345 ^a	8,07 \pm 0,680 ^b	0,0172
Lechones nacidos muertos	1,05 \pm 0,121	0,66 \pm 0,239	0,1578

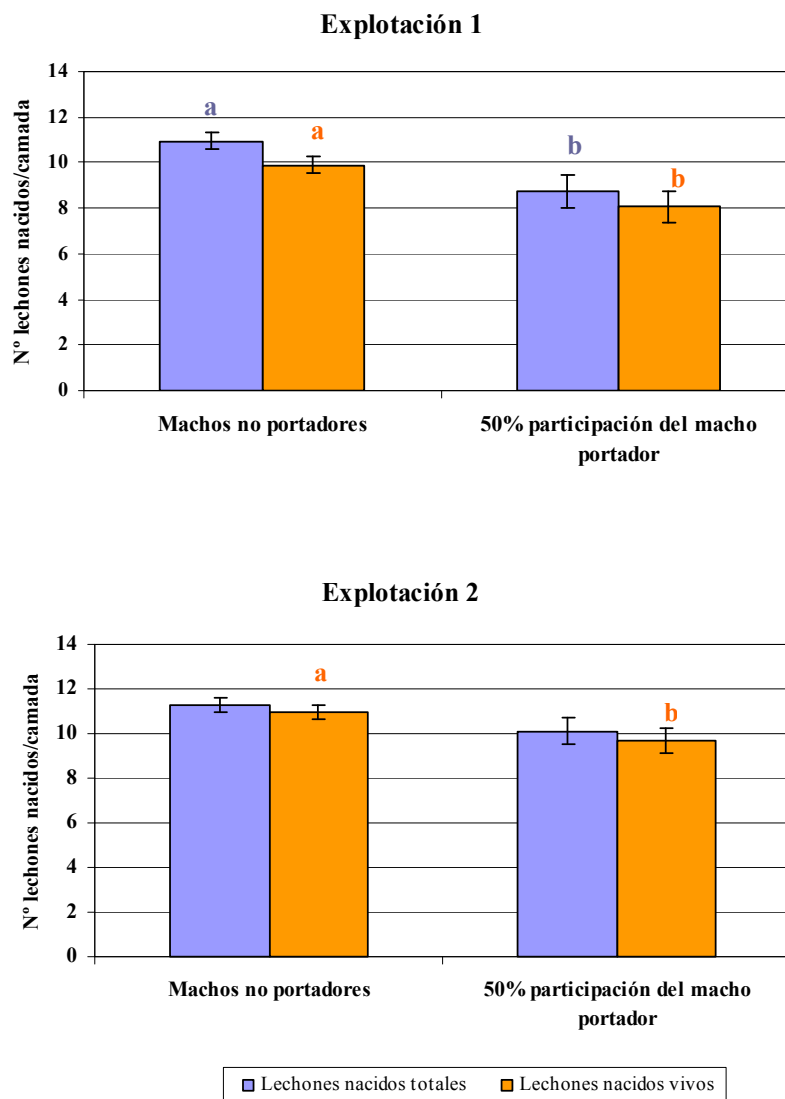
Explotación 2

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador¹	P-valor
Nº de camadas	138	37	
Lechones nacidos totales	11,27 \pm 0,300	10,11 \pm 0,579	0,0769
Lechones nacidos vivos	10,97 \pm 0,292 ^a	9,65 \pm 0,563 ^b	0,0385
Lechones nacidos muertos	0,30 \pm 0,297	0,46 \pm 0,459	0,2205

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

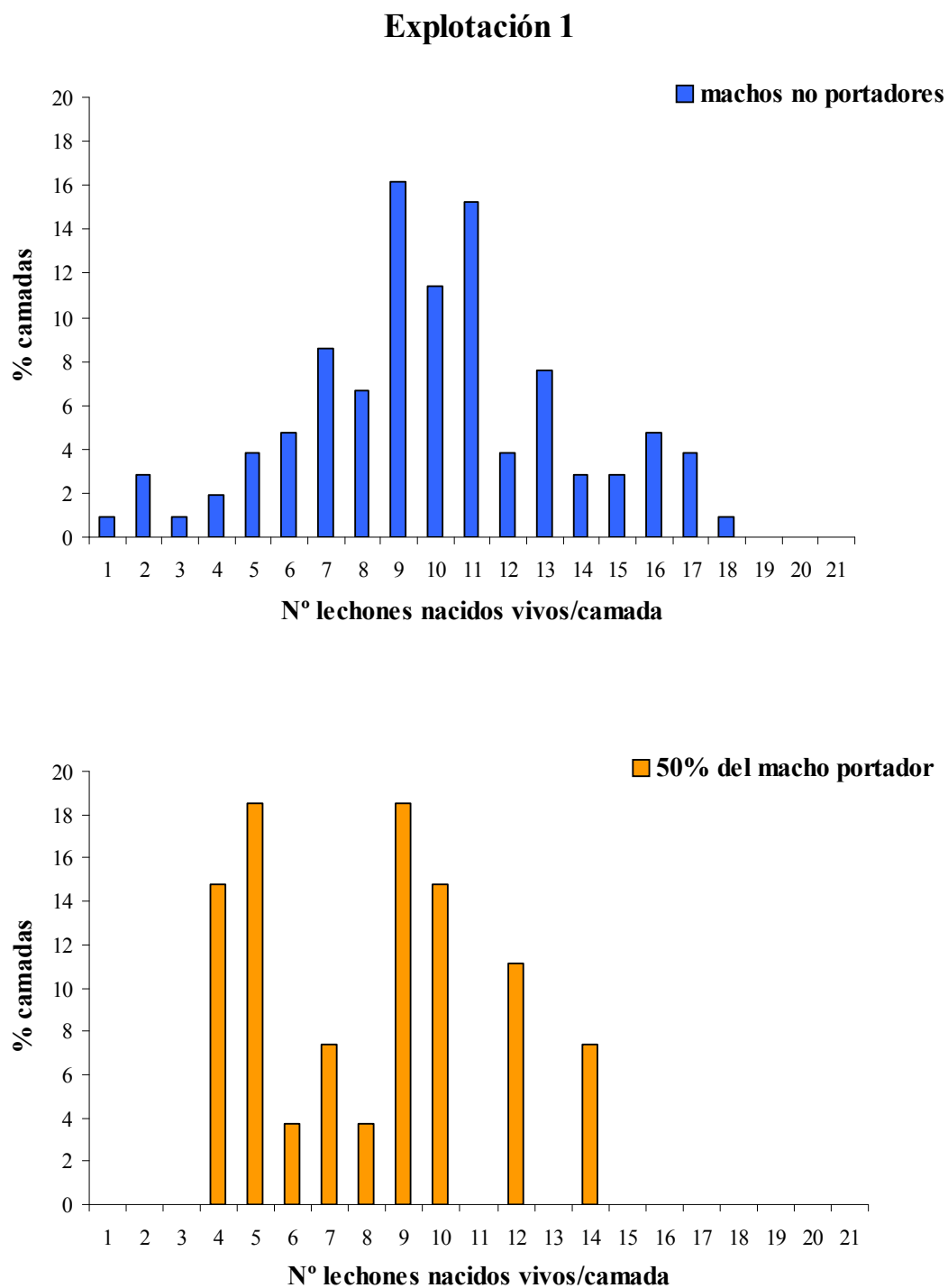
¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

Figura 42: Comparación del número de lechones nacidos por parto según el macho utilizado en las cubriciones. Letras diferentes en un mismo color indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

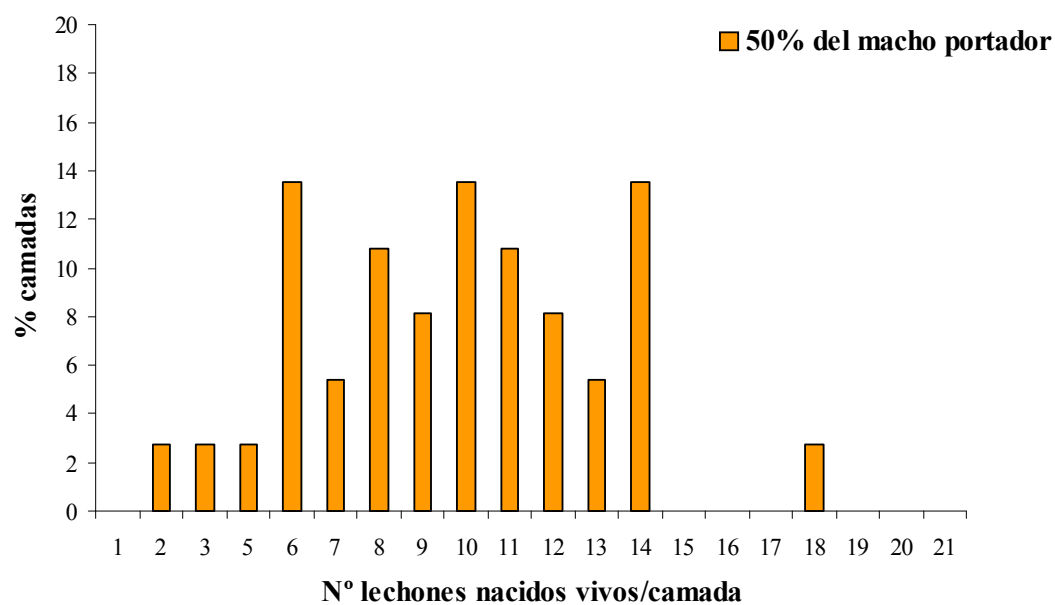
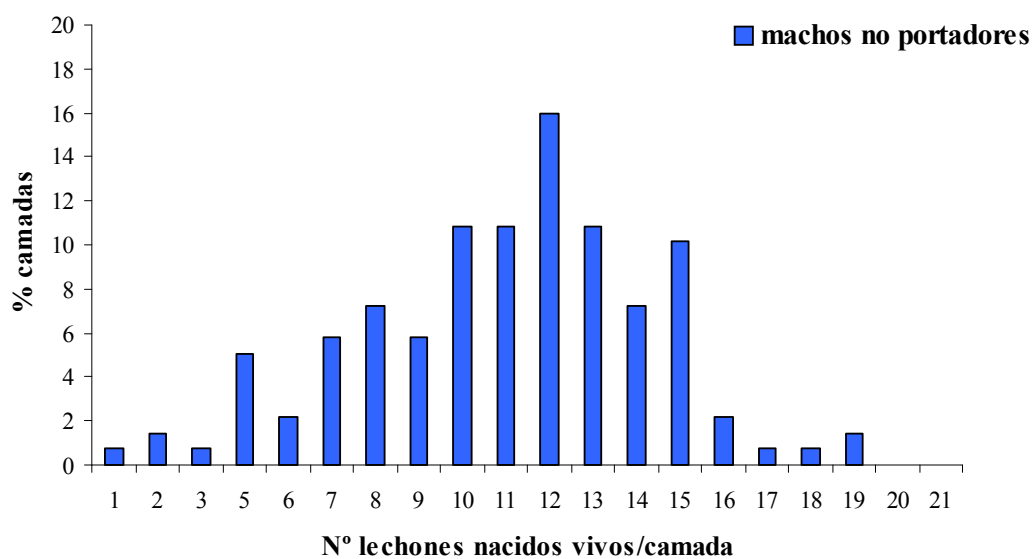


Se estudió la distribución de frecuencias de los tamaños de camada (lechones nacidos vivos) obtenidos con o sin la participación del macho portador de la translocación en las cubriciones. Los histogramas se muestran en la Figura 43. Se observan que los tamaños de camada menores de 8 lechones eran más frecuentes en caso de cubriciones del macho portador en ambas explotaciones, y en general tamaños mayores de 15 lechones eran más frecuentes en las camadas obtenidas en cubriciones con machos de cariotipo normal.

Figura 43: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición.



Explotación 2



Los resultados del estudio de la tasa de fertilidad obtenida con la presencia o no del macho portador de la translocación se presentan en la Tabla 16. En la explotación 1 se analizaron un total de 35 cubriciones con participación del macho portador al 50%, y 48 en la explotación 2. El porcentaje de fertilidad obtenido en las cubriciones con participación del verraco 5 fue de un 80% y 79,17% en la explotación 1 y 2 respectivamente, y estos valores fueron similares a los obtenidos en las cubriciones con machos contemporáneos con el cariotipo normal (78,26% y 85,37% respectivamente).

Tabla 16: Efecto sobre la fertilidad de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 5 portador de la translocación en las cubriciones (media \pm error estándar de la media).

Explotación 1

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador ¹	P-valor
Nº de cubriciones	138	35	
% fertilidad	78,26 \pm 3,510	80 \pm 6,970	0,8194

Explotación 2

	Machos no portadores	50% Dosis del macho portador ¹	P-valor
Nº de cubriciones	164	48	
% fertilidad	85,37 \pm 2,872	79,17 \pm 5,308	0,3387

¹Porcentaje de dosis seminales por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

5.2.4.3. Estudio de la calidad espermática del verraco portador de la translocación rcp(3;18)(q14;q21)

Del verraco 5 se obtuvieron un total de 20 eyaculados previos a su detección como animal portador de la translocación rcp(3;18)(q14;q21). Los resultados del estudio de la calidad espermática del macho portador comparativamente con la de los 22 machos contemporáneos con cariotipo normal presentes en el centro de inseminación se presentan en la Tabla 17.

El verraco 5 portador de la translocación no mostró diferencias significativas en los parámetros espermáticos cuantitativos (volumen, concentración y número de espermatozoides por eyaculado), ni en los cualitativos (porcentaje de acrosomas normales, o gotas citoplasmáticas), respecto a los obtenidos en los verracos con cariotipo normal. En el caso del porcentaje de colas en látigo incluso fue menor en el verraco portador de la translocación.

Tabla 17: Influencia de la presencia de la translocación recíproca en el verraco 5 sobre la calidad espermática (media \pm error estándar de la media).

Parámetros espermáticos	Verracos cariotipo normal	Verraco portador de la translocación rcp(3;18)(q14;q21)	P-valor
Nº de recogidas seminales	305	20	
Volumen de eyaculado (ml)	239,18 \pm 2,810	239,90 \pm 10,975	0,9492
Motilidad (%)	67,67 \pm 0,525 ^a	73,5 \pm 2,052 ^b	0,0063
Concentración espermática (espermatozoides $\times 10^6$ /ml)	293,44 \pm 5,902	315,5 \pm 23,048	0,3546
Número de espermatozoides por eyaculado ($\times 10^9$)	70,25 \pm 1,640	76,55 \pm 6,406	0,3418
Acrosomas normales (%) ¹	89,73 \pm 0,558	93,64 \pm 2,313	0,1027
Colas en látigo (%)	5,03 \pm 0,558	2,91 \pm 2,179	0,3465
Gota citoplasmática proximal (%)	1,10 \pm 0,177	1,92 \pm 0,694	0,2536
Gota citoplasmática distal (%)	7,51 \pm 0,458	6,92 \pm 0,776	0,2296

a, b, c: Superíndices diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹ Parámetro valorado en 189 recogidas seminales en el caso de los verracos de cariotipo normal y 11 recogidas en el verraco portador de la translocación.

Tabla 18: Resumen de los casos identificados de verracos portadores de translocaciones cromosómicas recíprocas en las dos poblaciones de estudio.

	Población A						Población B				
	Verraco 1				Verraco 2		Verraco 3	Verraco 4		Verraco 5	
Translocación identificada	rcp(1;11)(q24;p13)						rcp(3;14)(p14;q23)			rcp(3;18)(q14;q21)	
Edad verraco (meses)	38				13		23	23		16	
Nº de explotaciones de reproductoras estudiadas	1				1		1	2		2	
Nº de cubriciones analizadas del verraco	% Participación ¹				% Participación ¹		% Participación ¹	% Participación ¹		% Participación ¹	
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	50%	50%	100%	50%	
	250	174	74	25	202	57	107	411	17	83	
Nº de camadas analizadas del verraco	224	158	71	22	185	51	57	324	--	64	
Nº de recogidas seminales analizadas del verraco	66				24		48	53		20	
Tiempo en servicio en el centro de inseminación (meses)	31				6		12	12		7	

¹ Porcentaje de las dosis seminales utilizadas por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

Tabla 19: Resumen comparativo de la influencia sobre los parámetros reproductivos de las translocaciones cromosómicas identificadas

	Translocación	Verraco	Explotación	Machos no portadores	% Dosis del macho portador ¹				P-valor
					25	50	75	100	
Lechones nacidos totales	rcp(1;11)(q24;p13)	Verraco 1	-	13,58±0,259 ^a	13,15±0,223 ^a	12±0,266 ^b	11,93±0,397 ^b	9,59±0,713 ^c	<0,0001
		Verraco 2	-	13,38±0,307	12,54±0,237	12,37±0,449	--	--	0,0587
	rcp(3;14)(p14;q23)	Verraco 3	2	11,23±0,137 ^a	--	9,98±0,516 ^b	--	--	0,0195
		Verraco 4	1	11,23±0,151 ^a	--	10,10±0,354 ^b	--	--	0,0035
			2	11,19±0,113 ^a	--	9,79±0,284 ^b	--	--	0,0001
	rcp(3;18)(q14;q21)	Verraco 5	1	10,96±0,381 ^a	--	8,74±0,752 ^b	--	--	0,0095
			2	11,27±0,300	--	10,11±0,579	--	--	0,0769
Lechones nacidos vivos	rcp(1;11)(q24;p13)	Verraco 1	-	12,73±0,247 ^a	12,29±0,213 ^a	11,17±0,254 ^b	11,14±0,380 ^b	9,18±0,682 ^c	<0,0001
		Verraco 2	-	12,29±0,310 ^a	11,41±0,239 ^b	11,25±0,454 ^b	--	--	0,0493
	rcp(3;14)(p14;q23)	Verraco 3	2	10,62±0,128 ^a	--	9,23±0,481 ^b	--	--	0,0054
		Verraco 4	1	10,43±0,141 ^a	--	9,52±0,330 ^b	--	--	0,0122
			2	10,63±0,106 ^a	--	9,3±0,266 ^b	--	--	0,0001
	rcp(3;18)(q14;q21)	Verraco 5	1	9,91±0,345 ^a	--	8,07±0,680 ^b	--	--	0,0172
			2	10,97±0,292 ^a	--	9,65±0,563 ^b	--	--	0,0385
% fertilidad	rcp(1;11)(q24;p13)	Verraco 1	-	92,82±2,064	90,4±1,756	91,38±2,105	94,59±3,228	88±5,553	0,6721
		Verraco 2	-	91,74±2,496	92,57±1,932	89,47±3,637	--	--	0,7815
	rcp(3;14)(p14;q23)	Verraco 3	2	75,56±1,313 ^a	--	55,14±4,219 ^b	--	--	0,0001
		Verraco 4	1	76,17±1,359	--	70,77±3,088	--	--	0,1255
			2	77,13±1,080 ^a	--	65,53±2,511 ^b	--	35,29±10,426 ^c	0,0001
	rcp(3;18)(q14;q21)	Verraco 5	1	78,26±3,510	--	80±6,970	--	--	0,8194
			2	85,37±2,872	--	79,17±5,308	--	--	0,3387

¹ Porcentaje de las dosis seminales utilizadas por cubrición pertenecientes al macho portador de la translocación.

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

El principal objetivo del presente trabajo fue el estudio citogenético de dos poblaciones porcinas, y para ello se analizó el cariotipo de los verracos de los centros de inseminación artificial debido a la importancia que tiene el control de estos animales que generan un elevado número de camadas a lo largo de su vida productiva. El segundo objetivo fue el estudio de la repercusión de la presencia de alteraciones cromosómicas sobre la calidad espermática, y sobre los parámetros reproductivos de los verracos portadores. Los resultados obtenidos mostraron la existencia de 5 verracos, presentes en ambos centros de inseminación, portadores de translocaciones cromosómicas recíprocas en su cariotipo y cuyas dosis seminales habían sido utilizadas para inseminar a un elevado número de reproductoras. Las tres translocaciones recíprocas identificadas fueron: rcp(1;11)(q24;p13); rcp(3;14)(p14;q23); rcp(3;18)(q14;q21).

6.1. Caracterización de las translocaciones recíprocas identificadas

Todos los cromosomas que forman el cariotipo porcino se han visto involucrados en al menos una de la totalidad de translocaciones recíprocas descritas hasta la actualidad en esta especie (Ducos, *et al.*, 2007). En la mayoría de los casos se trata de nuevas reorganizaciones cromosómicas, y únicamente se repite una misma translocación en aquellos individuos que las heredan de progenitores portadores. En este estudio se han identificado 3 nuevas translocaciones cromosómicas en el cariotipo del cerdo, dos de las cuales se han presentado en dos animales con un parentesco común.

La translocación rcp(1;11)(q24;p13) es la primera vez que se presenta en porcino, aunque es la quinta que se ha descrito implicando al cromosoma submetacéntrico 1 y al metacéntrico 11. En concreto tan solo se había identificado una en el brazo p del cromosoma 11 (Tzocheva, *et al.*, 1994). Además es la primera translocación entre estos dos cromosomas que se identifica en un animal de raza Duroc.

Las otras dos alteraciones cromosómicas identificadas en este trabajo también en verracos de raza Duroc, rcp(3;14)(p14;q23) y rcp(3;18)(q14;q21), se trata igualmente de la primera vez que se presentan en porcino. Existen otras 8 translocaciones que afectan al

cromosoma 3, y entre ellas tres implican un intercambio con los cromosomas acrocéntricos 13, 15 y 16. Sin embargo hasta ahora no se había caracterizado ninguna entre el citado cromosoma y el acrocéntrico 14 ó el 18.

Los cromosomas 14 y 1 del cariotipo porcino son aquellos que se han visto implicados con mayor frecuencia en las translocaciones recíprocas identificadas hasta la actualidad en dicha especie. En concreto en el caso del cromosoma 14 la mayor facilidad a sufrir este tipo de reorganizaciones ya había sido citada por Gustavsson, (1988b), y actualmente se han identificado translocaciones que afectan a cada una de sus bandas a excepción de una de ellas (según la resolución de 287 bandas del cariotipo estándar del cerdo). En este estudio se presenta una nueva translocación que afecta al cromosoma 1 y otra al cromosoma 14. Diversos estudios han planteado algunas teorías sobre la distribución de las translocaciones recíprocas en los cromosomas del cerdo. Por una parte se ha demostrado que este proceso no sucede al azar, sino que unos cromosomas tienen mayor tendencia a sufrir fragmentaciones y reorganizaciones que otros (Fries y Stranzinger, 1982). Por otra parte, Riggs *et al.* (1993) y Roone (1995) observaron que en porcino las regiones cromosómicas donde habían sido identificadas en alguna ocasión translocaciones, se correspondían con los denominados lugares frágiles del cariotipo. La existencia de estas regiones cromosómicas frágiles han sido determinadas en varios estudios mediante la inducción *in vitro* con diferentes agentes mutágenos (Riggs *et al.*, 1993; Yang y Long, 1993; Ronne, 1995). Sin embargo, la información que se tiene en este sentido es todavía incompleta ya que es necesaria la realización de más estudios que permitan relacionar los puntos frágiles del cariotipo porcino identificados *in vitro* y las alteraciones identificadas ocurridas espontáneamente.

6.2. Efectos de las translocaciones recíprocas sobre el fenotipo

Las tres nuevas translocaciones identificadas en este estudio no se ha observado que provocaran efectos a nivel fenotípico en los verracos portadores. En general las translocaciones recíprocas en estado heterocigoto descritas en la bibliografía, tanto para la especie porcina como en humanos y otras especies animales, no se manifiestan en alteraciones del fenotipo del animal portador. Tan solo en algunos casos de animales con translocaciones entre el cromosoma X y un autosoma, como la translocación rcp(X;14)

(Villagómez *et al.*, 1991a; Singh *et al.*, 1994) y la rcp(X;13) (Gustavsson *et al.*, 1989), se ha observado que presenten hipoplasia en uno de los testículos. Este hecho se relacionó con problemas en el desarrollo de la espermatogénesis, de modo que no se llegaban a producir espermatozoides. En las translocaciones entre dos cromosomas no sexuales, únicamente se ha observado un caso de un verraco que también presentaba una ligera hipoplasia en uno de los testículos, y que resultó ser portador de un translocación rcp(2;14)(p14;q23) (Villagómez *et al.*, 1993). El análisis histológico determinó que el proceso de la espermatogénesis en ese testículo tampoco se llegaba a completar.

6.3. Origen de las translocaciones recíprocas identificadas

El origen de muchas de las translocaciones descritas en porcino es incierto, debido principalmente a que resulta imposible llevar a cabo el análisis citogenético de los progenitores en el momento de la detección, ya que suelen haber sido sacrificados, o simplemente no se tienen correctamente identificados (Mäkinen y Remes, 1986; Long, 1991; Villagómez *et al.*, 1995b). En el caso de la translocación rcp(3;18)(q14;q21) detectada en este estudio el origen es desconocido, ya que no se tuvo acceso al análisis citogenético de los progenitores ni de hermanos de camada o animales emparentados. Sin embargo en las otras dos anomalías detectadas, la translocación rcp(1;11)(q24;p13) y la rcp(3;14)(p14;q23), se pudo comprobar que se trataba de translocaciones heredadas: aunque en el momento de su detección los progenitores de los verracos portadores ya habían sido sacrificados, la información genealógica obtenida permitió concretar que en el caso de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) los dos animales que la presentaban tenían un abuelo en común, y que los dos verracos portadores de la translocación rcp(3;14)(p14;q23) eran hermanos de la misma camada. Por lo tanto en el caso de estas dos translocaciones se puso de manifiesto que se habrían originado espontáneamente en algún antecesor común no controlado a nivel citogenético.

Existen pocos casos descritos en la bibliografía de animales portadores de translocaciones y que se demuestre que son heredadas (Gustavsson *et al.*, 1983; Ducos *et al.*, 1998; Ducos *et al.*, 2002b). Esto es debido a que a medida que las poblaciones de reproductores están sometidas a un control citogenético rutinario, aquellos animales detectados con una translocación son inmediatamente eliminados de la población para así

evitar su difusión. El hecho que dos de las tres translocaciones identificadas en este estudio se hayan identificado en verracos emparentados, y que además se encuentren en servicio en centros de inseminación artificial, demuestra el escaso control que todavía se tiene de la presencia de estas alteraciones citogenéticas en algunas poblaciones porcinas.

6.4. Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la fertilidad

En los resultados obtenidos en el presente estudio se ha observado que de las tres nuevas translocaciones identificadas, únicamente la translocación $rcp(3;14)(p14;q23)$ ha afectado negativamente al porcentaje de fertilidad obtenido en las hembras inseminadas con dosis seminales de los machos portadores. Los dos verracos portadores de la citada translocación han causado una reducción de un 11,6% y un 20,42% respectivamente sobre la tasa de fertilidad obtenida cuando se inseminaba a las hembras con dobles inseminaciones, con una dosis seminal del verraco y la otra de un verraco con cariotipo normal. El porcentaje de fertilidad obtenido en una de las explotaciones en las 17 cubriciones realizadas con ambas dosis procedentes de uno de los machos portadores ha sido tan solo de un 35,29%, suponiendo una reducción de la fertilidad respecto a los machos con cariotipo normal de un 41,84%.

Existen escasos trabajos publicados que valoren el porcentaje de fertilidad obtenido en reproductoras inseminadas con verracos portadores de translocaciones recíprocas. Uno de los estudios más amplios que valoran en la especie porcina el efecto de las translocaciones sobre numerosos parámetros reproductivos es el realizado por Bonneau *et al.*, (1991a). En dicho trabajo realizaban apareamientos entre machos y hembras con diferentes translocaciones y animales con cariotipo normal, y controlaban el intervalo de tiempo desde el destete, aparición del celo en la hembra y fecundación. El intervalo destete-fecundación se vio incrementado cuando el macho y la hembra eran portadores de una translocación. Esto era debido a que la tasa de retorno a celo en las hembras se incrementaba. Determinaron también, que en el caso de cubriciones con dobles inseminación con un verraco normal y uno translocado, no se producía incremento del intervalo de tiempo destete-fecundación. Esto último difiere con nuestros resultados en que si que se observa en general una reducción de la fertilidad en las dobles inseminaciones con alguna dosis de los verracos portadores de la translocación $rcp(3;14)(p14;q23)$. El hecho de que en una de las

explotaciones de reproductoras analizadas en este estudio, no se haya observado el efecto negativo sobre la fertilidad cuando uno de los verracos portadores de dicha translocación participaba al 50% en las cubriciones, podría ser debido por una parte a que hubo un menor número de réplicas (cubriciones), y por otra a que no se obtuvieron datos de cubriciones en pureza con el macho portador. Bonneau *et al.*, (1991a) observaron además las diferencias que existen entre las consecuencias reproductivas de unas translocaciones recíprocas u otras. Igual que para el efecto sobre la prolificidad, las repercusiones sobre el porcentaje de fertilidad dependerá de características intrínsecas de la translocación (cromosomas afectados, tamaño del fragmento translocado, lugares de corte...etc).

En otros trabajos en que se ha encontrado una reducción de la fertilidad al realizar cubriciones con machos portadores de translocaciones, el porcentaje de repeticiones máximo observado ha sido de un 21% en un caso de una translocación rcp(15;16) (Gustavsson, 1988b). Sin embargo en este estudio se ha observado hasta un 64,71% de repeticiones en las hembras inseminadas con dosis seminales de uno de los verracos portadores de la translocación rcp(3;14)(p14;q23). Esto supone una pérdida aún más acusada en días productivos de las hembras, que sumado al efecto causado sobre la reducción del tamaño de camada provocó unas mayores pérdidas económicas en ambas explotaciones estudiadas.

6.5. Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la prolificidad

En el presente estudio el parámetro reproductivo mas afectado negativamente por la inseminación con los verracos portadores de alguna de las translocaciones recíprocas identificadas ha sido la prolificidad. La estimación del promedio de reducción de la prolificidad debido a la presencia de translocaciones cromosómicas recíprocas en la especie porcina es de un 41% (Ducos *et al.*, 1996), con un intervalo de variación entre un 5% y un 68%, e incluso se han descrito casos de esterilidad total. La mayoría de las alteraciones se han identificado en machos y por lo tanto prácticamente todos los estudios que valoran el efecto de las translocaciones recíprocas sobre la prolificidad se han realizado a partir de identificaciones de estas alteraciones en verracos. Esto es debido a que la detección de la hipoprolificidad es más rápida y evidente que en las hembras por el mayor número de camadas que generan, sobretudo si se trata de animales de centros de inseminación. La problemática que existe en la mayoría de estos estudios radica por una parte en la obtención

de datos suficientes de inseminaciones monospermicas con el verraco portador de la translocación, y por otra en la falta de resultados de otros verracos contemporáneos con cariotipo normal que se utilicen en las mismas explotaciones de reproductoras y con los que comparar los obtenidos del animal portador (Popescu y Legault, 1988). En el manejo reproductivo actual en las explotaciones porcinas con el uso de la inseminación artificial, es común la realización de dobles incluso múltiples inseminaciones en diferentes momentos del estro de la cerda, y en muchos casos con dosis seminales de diferentes verracos. Esto hace difícil la valoración concreta de las consecuencias de una translocación cuando en las cubriciones además de dosis seminales del macho portador se usan dosis de otros machos, diluyéndose el efecto que producen sobre los resultados reproductivos. En un trabajo publicado por Bonneau *et al.*, (1991a), encontraron que la translocación rcp(16;17) provocaba una reducción del tamaño de camada en un granja comercial de un 31%, mientras que en cubriciones en condiciones experimentales se produjo un descenso de un 80%. Estas diferencias se atribuían a la práctica de la doble inseminación con verracos diferentes. Estos autores estimaron que la reducción de la prolificidad cuando solo una de las dosis seminales utilizadas en la doble inseminación era de un macho portador de una translocación era de aproximadamente un 20%.

En los resultados obtenidos en este estudio se observa que la presencia de las translocaciones recíprocas en los verracos afecta negativamente al tamaño de las camadas generadas, incluso cuando se realizan dobles o múltiples inseminaciones dónde solo algunas de las dosis pertenecen al verraco portador de la alteración cromosómica.

En el caso de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) identificada en dos verracos en la población A, las dosis seminales de ambos animales portadores habían sido utilizadas en cubriciones mediante un sistema de múltiples inseminaciones por hembra. No obstante se observó que el tamaño de camada se reducía progresivamente, a medida que aumentaba el porcentaje de participación del macho portador en la cubrición desde un 25% a un 100%. La disminución de la prolificidad observada en los verracos 1 y 2 portadores de esta translocación rcp(1;11)(q24;p13) cuando participaban en un 50% de la cubrición, fue de un 11,63% y un 7,55% respectivamente. Estos valores no se pueden comparar con los obtenidos en otras translocaciones identificadas en porcino, debido a que no existen trabajos en que se evalúe el efecto de estas alteraciones cuando el verraco participa en dobles o múltiples inseminaciones. En el caso del verraco 1 se obtuvieron adicionalmente camadas de

cubriciones realizadas en pureza, observándose una disminución de la prolificidad de un 29,38%. Existen otros 4 casos publicados de animales portadores de translocaciones entre el cromosoma 1 y 11 (Kuokkanen y Mäkinen, 1988; Tzocheva, 1994), dos de los cuales fueron estudiados a nivel reproductivo demostrando causar una disminución de la prolificidad en un 33 y 17,35% respectivamente. No obstante la fragmentación no se produjo ni en las mismas bandas ni en los mismos brazos cromosómicos que la identificada en el presente estudio, y aunque el porcentaje de reducción pueda aproximarse no se puede comparar estrictamente. Si se comparan los porcentajes de disminución de la prolificidad obtenidos en este estudio, con los obtenidos en otros trabajos publicados de verracos que presentaban translocaciones en el cromosoma 1 o en el 11 se obtienen resultados similares. En el caso del cromosoma 1, que ha estado implicado en otras 16 translocaciones en las que se ha realizado estudio reproductivo del verraco portador (Anexo), el promedio de disminución de la prolificidad fue de un 33%. Para el cromosoma 11 el promedio es similar al anterior, de un 37% (Anexo). Por lo tanto, la reducción de un 29,38% en el tamaño total de las camadas generadas por el verraco 1 portador de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$, es similar al promedio observado en otros trabajos publicados de translocaciones identificadas en el cromosoma 1 ó en el 11. Además del efecto sobre el tamaño de la camada en el momento del parto, la observación por parte de los técnicos de las explotaciones detectó la aparición de numerosos casos de lechones nacidos con malformaciones y que morían entre las 24-48 horas post-parto, produciéndose un incremento acusado del porcentaje de bajas de lechones, aunque este dato no pudo ser controlado adecuadamente debido a las adopciones realizadas entre reproductoras justo después del parto.

Por otra parte, las dosis seminales de los verracos de la población B portadores de la translocación $rcp(3;14)(p14;q23)$ o de la $rcp(3;18)(q14;q21)$, habían sido utilizadas en dobles inseminaciones, y en la mayoría de los casos combinadas con otra dosis de un macho con cariotipo normal. Aún así, tan solo con un 50% de participación del verraco portador en la cubrición se ha demostrado una disminución de la prolificidad de un 11,23% de media en los dos verracos portadores de la translocación $rcp(3;14)(p14;q23)$, y un 15,27% de reducción en el caso del verraco portador de la translocación $rcp(3;18)(q14;q21)$. No existen otras translocaciones en porcino identificadas hasta la actualidad entre los mismos cromosomas (3 y 14, ó 3 y 18) por lo que no se puede comparar el dato obtenido de reducción de la prolificidad. El promedio de disminución del tamaño total de camada de

otras translocaciones en que el cromosoma 3 se haya implicado es de un 37%, y la misma reducción se observa en el promedio de las numerosas translocaciones estudiadas en el cromosoma 14. Entre las translocaciones identificadas que afectan al cromosoma 18 únicamente en una se han valorado los efectos sobre la reproducción (Villagomez *et al.*, 1991b), resultando en una reducción del tamaño de camada de un 45%. Sin embargo los efectos sobre la prolificidad de las dos translocaciones aquí identificadas no pudieron ser valorados en cubriciones monospermicas, únicamente con dosis de los verracos portadores, y los porcentajes de disminución obtenidos en la participación al 50% no se pueden comparar con los existentes en la bibliografía. La variación entre un 10-15% de reducción de la prolificidad, coincide no obstante con lo observado en el caso de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) cuando también se utilizan las dosis seminales del verraco portador en dobles inseminaciones con dosis de animales con cariotipo normal.

Las tres translocaciones recíprocas identificadas en el presente estudio mostraron tener un efecto negativo sobre el número de lechones nacidos vivos por camada cuando las hembras eran inseminadas como mínimo con un 50% de las dosis seminales pertenecientes a un verraco portador. La comparación de los promedios de disminución del número de lechones nacidos vivos en las camadas generadas por cada uno de los verracos portadores participando al 50% en la cubrición se muestra en la Tabla 20.

Tabla 20: Porcentaje de reducción del número de lechones nacidos vivos por camada en las cubriciones realizadas con el 50% de las dosis seminales de los verracos portadores.

Translocación recíproca	Reducción del número de lechones nacidos vivos por camada (%) ¹
rcp(1;11)(q24;p13)	
Verraco 1	12,25%
Verraco 2	8,46%
rcp(3;14)(p14;q23)	
Verraco 3	13,09%
Verraco 4	10,61% ²
rcp(3;18)(q14;q21)	
Verraco 5	15,3% ²

¹Camadas producidas de cubriciones realizadas con un 50% de las dosis del macho portador de la translocación.

²Valor promedio de los resultados reproductivos de las dos explotaciones analizadas.

En el caso de las translocaciones $rcp(1:11)(q24;p13)$ y $rcp(3:14)(p14;q23)$ que se presentaron en dos animales cada una de ellas, la reducción del tamaño de la camada fue similar para ambos verracos con la misma translocación. Además en el verraco 1, el único en que se valoró el efecto de la translocación en camadas generadas de cubriciones en pureza, se observó que la reducción en el número de lechones nacidos vivos fue de un 27,89%. Este porcentaje es similar a la reducción en lechones nacidos totales, indicando que la reducción del tamaño de la camada es debida a un menor número de lechones nacidos vivos. La mayoría de publicaciones únicamente muestran la reducción del número de lechones nacidos totales por parto, pero en algunas translocaciones publicadas si que se han valorado otros parámetros como el número de lechones nacidos vivos. En un trabajo de Gustavsson y Jonsson (1992), se estimó que la disminución del número de lechones nacidos vivos provocado por inseminaciones con un macho portador de la translocación $rcp(14;15)(q29;q24)$ fue de un 37%. Este porcentaje es algo mayor que el efecto de la translocación aquí descrita $rcp(1;11)(q24;p13)$.

En ninguna de las translocaciones identificadas se observa un incremento en el número de lechones nacidos muertos. Esto indica que el descenso en el número de nacidos totales es solo debido a los nacidos vivos, y que probablemente sea debido a mortalidad embrionaria en las primeras etapas y no durante el desarrollo fetal en etapas avanzadas de gestación. El número de lechones nacidos muertos únicamente se ha visto afectado en las cubriciones realizadas con el 50% de dosis de uno de los verracos con la translocación $rcp(3:14)(p14;q23)$, produciéndose un descenso significativo de un 28,75% respecto a las camadas de los machos contemporáneos. Esto puede ser debido por una parte a que al existir un menor número de embriones durante la gestación, como indica el descenso de lechones nacidos vivos, el espacio uterino disponible es mayor y la competencia embrionaria menor (Legault *et al.*, 1995), disminuyendo así la mortalidad fetal durante la gestación. Por otra parte, se sabe que la mayor parte de mortalidad de lechones se produce durante el parto, y que los partos de camadas mayores son más complicados (Dziuk, 1991). De esta manera en los partos de las reproductoras cubiertas con alguna dosis del macho portador de la translocación, al existir un menor número de lechones se produciría una menor mortalidad. No obstante en el otro verraco portador de la misma translocación no se ha observado este efecto, ni tampoco en las otras dos translocaciones estudiadas.

En la bibliografía, existe por lo tanto una enorme variabilidad en la estimación del porcentaje de reducción de la prolificidad causado por la presencia de una translocación recíproca en un reproductor. Esto es debido a las diferencias en el patrón de segregación meiótica durante la gametogénesis (Pinton *et al.*, 2003). Aunque en porcino existen todavía escasos trabajos que analizan los porcentajes de cada tipo de segregación en los gametos de animales portadores de translocaciones, en humanos se ha valorado en numerosos trabajos (Oliver-Bonet, 2003). Se ha observado que los porcentajes de cada tipo de segregación están estrechamente relacionados con las características físicas del cuadrivalente. Estas a su vez vienen determinadas por factores como son los cromosomas implicados en la translocación, la longitud de los segmentos intersticiales y translocados, la probabilidad de recombinación en estos segmentos y la localización de los puntos de fragmentación (Cifuentes, *et al.*, 1999). Así por ejemplo, incluso una translocación entre los dos mismos cromosomas en dos individuos diferentes puede llegar a producir diferentes proporciones de gametos equilibrados/desequilibrados en función de los puntos de fragmentación en los cromosomas (Estop *et al.*, 1995). Puesto que cada translocación se comporta de manera única y particular, es necesario realizar el estudio meiótico individualizado de cada animal portador de una reorganización, para poder determinar cual es el alcance potencial sobre la reproducción. No obstante aún conociendo el porcentaje de gametos desequilibrados, la severidad dependerá de las duplicaciones y deficiencias cromosómicas que se generen, pudiendo ser más o menos letales.

6.6. Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la calidad espermática

Otro de los objetivos planteados en este estudio fue evaluar la influencia de las translocaciones recíprocas sobre la calidad espermática de los verracos afectados. La presencia de una translocación entre cromosomas autosómicos del cariotipo porcino no suele afectar a los parámetros espermáticos de los machos portadores (Bouters *et al.*, 1974; Hageltorn *et al.*, 1976; Bonneau *et al.*, 1991b). En general la calidad seminal de estos animales se encuentra en los límites normales, y por lo tanto una vez introducidos en centros

de inseminación es poco probable que sean detectados como sospechosos de presentar alguna translocación en base a los análisis rutinarios realizados de las recogidas seminales.

En el estudio que se presenta se ha valorado la calidad espermática de los verracos portadores de translocaciones recíprocas en un número elevado de recogidas seminales, a diferencia de otros trabajos publicados donde no se ha realizado un análisis tan exhaustivo de datos. Los resultados obtenidos indicaron que el verraco portador de la translocación rcp(3;18)(q14;q21) mostró parámetros espermáticos similares a los verracos con cariotipo normal, sin embargo los verracos portadores de las translocaciones rcp(1;11)(q24;p13) y rcp(3;14)(p14;q23) presentaron diferencias respecto a los verracos del centro de inseminación con cariotipo normal.

El volumen de eyaculado obtenido por recogida seminal fue siempre menor en los verracos portadores de las translocaciones rcp(1;11)(q24;p13) y rcp(3;14)(p14;q23) que en los verracos con cariotipo normal. El eyaculado está constituido por los espermatozoides y por el plasma seminal que se sintetiza en las glándulas accesorias y que constituye la mayor parte del volumen del eyaculado (Sirigu *et al.*, 1993). En la especie porcina el testículo y el epidídimo aportan el 2,5% del volumen del eyaculado, las glándulas vesiculares el 15-20%, las glándulas bulbouretrales el 10-25% y la próstata el 55-75% (Dyce *et al.*, 1999). En verracos el volumen de eyaculado en comparación con otras especies es muy elevado, oscilando entre 200 y 300 ml según diversos autores (Rothschild, 1996; Pinart, *et al.*, 1999). No existe ninguna referencia en porcino, ni en otras especies incluidas la humana, que indique una relación entre la presencia de una translocación cromosómica en el cariotipo y alteraciones en el volumen de eyaculado producido por los verracos portadores. En un trabajo de Bonneau *et al.* (1991a) identificaron un verraco portador de la translocación rcp(5;14)(p11;q11) y otro de la rcp(16;17), y controlaron la producción espermática en 6 recogidas seminales observando que el volumen de eyaculado no fue diferente a la de un macho con cariotipo normal. Sin embargo en el resto de casos de translocaciones identificadas en porcino normalmente se apunta a que la calidad espermática del verraco suele ser normal, pero no se detallan los parámetros que se analizan. Existen pocos trabajos que estudien las alteraciones en la funcionalidad de las glándulas accesorias, pero se conoce que los cambios hormonales pueden influir en una reducción del volumen de tejido glandular (Chow y Pang, 1989; Gottreich *et al.*, 1996; Gottreich *et al.*, 2000; Goeritz *et al.*, 2003) traducándose en una disminución de la actividad secretora. Esto podría ayudar a

explicar las diferencias de volumen observadas en los verracos portadores de las translocaciones rcp(1;11)(q24;p13) y rcp(3;14)(p14;q23) aquí descritas, pudiendo estar relacionadas con un menor desarrollo de las glándulas sexuales accesorias en estos animales.

Asimismo, en el caso de la translocación rcp(3;14)(p14;q23) detectada en dos animales, además de un menor volumen afectó negativamente a la concentración espermática en los eyaculados. La concentración y el volumen de eyaculado son dos parámetros seminales que se correlacionan negativamente (Graham *et al.*, 1967; Saiz *et al.*, 1994; Sánchez *et al.*, 1996; Gadea, 1997). En este estudio en los animales con dicha translocación el menor volumen de eyaculado no va asociado a una mayor concentración, siendo el número total de espermatozoides también menor. Este último parámetro es muy importante debido a que de él depende el número de dosis seminales producidas de un verraco. En los datos obtenidos en humanos es frecuente observar como los individuos portadores de una translocación recíproca presentan una reducción de la concentración espermática o incluso una esterilidad total, según se interrumpa parcial o completamente la espermatogénesis (Chandley *et al.*, 1975; Matsuda, *et al.*, 1991; Mikelsaar, *et al.*, 2006). En la especie porcina sin embargo, los estudios publicados han mostrado que la espermatogénesis de los animales portadores de translocaciones recíprocas no suele verse afectada, aunque se ha descrito algún caso aislado de verracos portadores donde se muestra una reducción de la concentración espermática. Villagomez *et al.*, (1993) identificaron un verraco portador de la translocación rcp(2;14)(p14;q23) que presentaba una reducción del orden de un 51% en la concentración espermática, pero sin verse afectados otros parámetros seminales. Este estudio mostró que era debido a problemas durante la espermatogénesis de modo que no llegaba a completarse el proceso y se producía una menor cantidad de espermatozoides. Otro caso similar fue identificado por Gustavsson *et al.* (1993) (citado por Villagómez *et al.*, 1993), y se trataba de un verraco portador de una translocación rcp(2;4)(p17;q11) que también tenía una menor concentración espermática en los eyaculados por las mismas causas.

Durante la espermatogénesis, la detención del proceso en los individuos portadores de translocaciones recíprocas se produce por un comportamiento irregular durante la sinapsis cromosómica en la meiosis (De Boer y De Jong, 1989; Speed, 1989). En el momento en que todos los lugares de apareamiento cromosómico no están saturados y se forman configuraciones abiertas, se pueden producir asociaciones irregulares que

normalmente son con el par cromosómico sexual XY. Estudios realizados en humanos y en el ratón (Gabriel-Robez y Rumpler, 1996) muestran que estas asociaciones anómalas suceden con mayor frecuencia cuando uno de los cromosomas implicados en la translocación es un acrocéntrico, y como consecuencia del intercambio cromosómico se genera un cromosoma derivativo muy pequeño. Al producirse asociaciones inespecíficas con el bivalente XY, se puede interferir en la inactivación del cromosoma X quedando interrumpida la espermatogénesis. Sin embargo en el cerdo solo se tiene constancia de este tipo de asociaciones con el par cromosómico sexual durante la sinapsis en la translocación rcp(2;4)(p17;q11) (Gustavsson *et al.*, 1993 citado por Villagómez *et al.*, 1993), y en la translocación rcp(7;17) (Villagómez *et al.*, 1995b). Una hipótesis por la que se intenta explicar la causa de que en la especie porcina no sean tan frecuentes los casos de animales portadores de translocaciones recíprocas con la espermatogénesis afectada, se basa en la idea de que en la etapa de paquiteno de la meiosis existe una mayor facilidad de que se produzcan apareamientos entre regiones no homólogas. Estas asociaciones permitirían que la espermatogénesis no se detuviera cuando se producen sinapsis irregulares en algunas translocaciones (Gabriel-Robez *et al.*, 1988).

En el presente estudio se identifican dos translocaciones que afectan a cromosomas acrocéntricos rcp(3;14)(p14;q23) y rcp(3;18)(q14;q21). En la primera, la concentración espermática es menor en los verracos portadores, pero sin embargo en la segunda no se encuentran diferencias respecto a los verracos contemporáneos. Villagomez *et al.* (1991b) encontraron también que dos translocaciones con dos cromosomas acrocéntricos rcp(7q+;17q-) y rcp(1q+/18q-) mostraban un comportamiento sináptico muy diferente. Mientras en el primer caso no se formaba correctamente la figura del cuadrivalente y se observaban algunas heterosinapsis con los cromosomas sexuales, en el segundo caso no se encontraron apareamientos con el bivalente sexual. Estas diferencias de comportamiento en los apareamientos en la meiosis se plantean como la causa de una interrupción en mayor o menor grado de la espermatogénesis. En la translocación rcp(3;14)(p14;q23) descrita en el presente estudio la disminución de la concentración espermática podría ser debida a una interrupción parcial de la espermatogénesis, que podría estar causada por problemas acaecidos durante el apareamiento cromosómico.

Para el caso de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) los dos verracos portadores presentaron discordancias en cuanto a los valores de concentración espermática, siendo

menor en el verraco 2 que los contemporáneos con cariotipo normal, pero sin embargo el verraco 1 fue el que mayor concentración presentó. Estas diferencias entre los dos verracos no permiten concluir que la translocación afecte a la concentración espermática, y las diferencias respecto a los machos contemporáneos podrían ser explicadas por las variaciones individuales de la calidad seminal, al tratarse únicamente de los datos de un macho comparado con la media de varios machos.

Respecto al porcentaje de gotas citoplasmáticas (gota citoplasmática distal y proximal), el verraco 1 de la población A portador de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$ presentó unos valores peores que los machos contemporáneos, pero no fue así con los resultados del verraco 2 portador de la misma translocación. Esto sugiere que las diferencias observadas no están asociadas a la presencia de la translocación. La gota citoplasmática sobre el cuello (proximal) o en la pieza intermedia (distal), es un atributo de espermatozoides inmaduros. Se consideran el resultado del proceso de reducción del volumen citoplasmático en la espermatida y no tienen ninguna funcionalidad, por lo que tiende a desaparecer mediante un proceso de migración y pérdida de la gota citoplasmática a lo largo del recorrido por el epidídimo (Peláez, J. *et al.*, 1999). La presencia de un mayor porcentaje de gotas citoplasmáticas en los eyaculados del verraco 1 podría estar asociada con otros factores extrínsecos o intrínsecos. Por ejemplo, existen pocos trabajos donde se valore el efecto de la edad en el porcentaje de espermatozoides con morfología anormal en los eyaculados, aunque diversos autores coinciden en que existe una marcada influencia (Falkenberg, *et al.*, 1992; Kondracki *et al.*, 2005). En un trabajo realizado por Kondracki *et al.*, (2004) en el que se analizaron eyaculados de verracos de 4 intervalos de edad hasta los 37 meses, se observó como las recogidas seminales realizadas a verracos de los 13 a los 18 meses de edad fueron aquellas que presentaron el menor porcentaje de morfoanomalías en los espermatozoides. En la etapa final de la vida reproductiva del verraco, se produce en general un empeoramiento de la calidad seminal, que puede ir acompañado de una disminución del porcentaje de fertilidad (Quiles y Hevia, 2005). La mayor edad del verraco 1 respecto a la del verraco 2 podría haber afectado al porcentaje de gotas citoplasmáticas distales observado. En el caso de la translocación $rcp(3;14)(p14;q23)$ que también fue identificada en dos verracos éstos no presentaron diferencias en los parámetros espermáticos cualitativos medidos, siendo además de la misma edad ya que eran hermanos de camada.

En los verracos identificados con translocaciones recíprocas en el presente estudio no se observó que la presencia de la translocación afectara negativamente al porcentaje de motilidad de los espermatozoides. Únicamente en el caso del verraco 1 de la población A portador de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$ se observó una ligera disminución de la motilidad, aunque no fue así en el verraco 2 portador de la misma translocación con lo cual no se puede relacionar con la presencia de la translocación. Además en los estudios publicados de correlación entre la motilidad y los parámetros reproductivos, no existen resultados concluyentes de que variaciones en la motilidad esté asociada a una disminución de la fertilidad del verraco (Berger y Parker, 1989; Johnson *et al.*, 2000).

La disminución en la concentración espermática y en el volumen no se puede relacionar con la reducción en los parámetros reproductivos de prolificidad o fertilidad analizados, puesto que el eyaculado producido en cada recogida seminal por verraco se divide en múltiples dosis seminales con la misma concentración y volumen final mediante el uso de diluyentes. Sin embargo en el caso del verraco 1 portador de la translocación $rcp(1;11)(q24;p13)$, presentó además un elevado porcentaje de gotas citoplasmáticas. Los eyaculados que presentan un mayor porcentaje de morfoanomalías, especialmente de gotas citoplasmáticas, han demostrado tener una menor eficiencia de penetración de ovocitos *in vitro* (Gadea y Matas, 2000). En los resultados reproductivos de dicho verraco se observó que en las cubriciones realizadas únicamente con sus dosis seminales la prolificidad experimentó un importante descenso, pero la tasa de fertilidad no se vio afectada. Esto podría sugerir que la peor calidad espermática del verraco no llegara a manifestarse en una disminución del porcentaje de fertilidad observado, pero que la disminución en el número de ovocitos fecundados se sumara al efecto sobre el incremento de la mortalidad embrionaria por la fecundación con espermatozoides cromosómicamente desequilibrados.

6.7. Efectos de las translocaciones recíprocas sobre la descendencia

Tal y como se ha citado anteriormente los animales portadores de translocaciones no presentan habitualmente alteraciones fenotípicas. Sin embargo en algunos casos se ha observado en la descendencia la aparición de lechones con malformaciones congénitas. Suele tratarse de lechones que mueren precozmente en las primeras horas de vida.

En el caso de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) identificada en este trabajo en dos verracos con fenotipo normal, se observó en las camadas generadas una elevada incidencia de nacimientos de lechones con malformaciones (fisuras palatinas, ascitis, testículos con hidroceles y malformaciones de aplomos en los miembros anteriores), que además morían en escasas horas después del parto. Las malformaciones que presentaban coinciden con las descritas en la bibliografía en otras translocaciones, incluso implicando cromosomas diferentes a los del presente estudio. Por ejemplo algunas de las malformaciones encontradas como la presencia de fisura palatina, y por lo tanto aparición de problemas para amamantarse, o defectos en los miembros anteriores han sido citadas frecuentemente en lechones de verracos con translocaciones (Hansen-Melander y Melander, 1970; Gustavsson, 1988b; Gustavsson y Jönsson, 1992; Villagómez *et al.*, 1995b; Ducos *et al.*, 2004). En estos trabajos el análisis citogenético de esos lechones demostró siempre la presencia de una translocación en estado desequilibrado, con monosomías o trisomías parciales de alguno de los cromosomas implicados en la alteración. Son por lo tanto el resultado de fecundaciones de un gameto normal con otro en desequilibrio cromosómico producido en la segregación meiótica de un progenitor con una translocación recíproca equilibrada. Habitualmente este tipo de fecundaciones forman cigotos desequilibrados que son eliminados en las primeras etapas de gestación incluso antes de la implantación en el útero, y resultando en un incremento en la mortalidad embrionaria (King *et al.*, 1981). Sin embargo en otros casos los embriones llegan a completar su desarrollo aunque los lechones nacen con diferentes grados de malformaciones congénitas (Ducos *et al.*, 2004), como ocurre en el caso de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) descrita en este estudio. La escasa viabilidad de estos lechones con malformaciones provocó un incremento de la mortalidad después del parto, que junto con el descenso de prolificidad empeoraba la productividad de las cerdas en las granjas afectadas.

En los partos de hembras inseminadas con los machos portadores de las otras dos translocaciones identificadas en el presente estudio, no se apreciaron casos de lechones nacidos con malformaciones. Esto coincide con lo observado en la mayoría de translocaciones identificadas en porcino. Las razones de estas diferencias en los efectos de unas translocaciones y otras podrían explicarse por la letalidad de los cariotipos desequilibrados, que es muy variable en función de los segmentos cromosómicos implicados en la reorganización. Existen estudios que describen como en los desequilibrios

cromosómicos las monosomías son más letales que las trisomías (Epstein y Trevis, 1979). Así por ejemplo en dos trabajos en que se analizó el cariotipo de lechones nacidos con malformaciones (Gustavsson y Jönsson, 1992; Ducos *et al.*, 2004) se encontró que tenían la misma translocación que el progenitor pero desequilibrada, con trisomía parcial del fragmento cromosómico mayor implicado en la translocación, y monosomía del segmento más pequeño. Sin embargo se proponía que los embriones con monosomía parcial en el fragmento translocado mayor, y trisomía parcial en el de menor tamaño no hubieran llegado a completar el desarrollo. De otro modo, cuando un verraco portador de un translocación ha sido utilizado en un centro de inseminación y sus dosis seminales se han distribuido a diferentes granjas comerciales, puede resultar difícil el estudio y seguimiento de la descendencia. Esto podría haber influido en que en muchos de los trabajos no se hubiera dispuesto de información sobre la existencia o no de lechones con malformaciones congénitas en la descendencia de animales portadores.

El conjunto de resultados expuestos en este estudio muestra las repercusiones reproductivas de la presencia de tres nuevas translocaciones cromosómicas recíprocas en heterocigosis en verracos utilizados en inseminación artificial. El efecto sobre los parámetros de prolificidad y/o de fertilidad de las reproductoras inseminadas con dosis seminales de los machos portadores, se puso en evidencia incluso cuando éstas se utilizan en dobles inseminaciones con dosis de machos con cariotipo normal. En la translocación rcp(1;11)(q24;p13) identificada, se comprobó además que en cubriciones realizadas con el método de múltiples inseminaciones la reducción del tamaño de la camada fue gradual a medida que se incrementaba el número de dosis seminales del macho portador. El parámetro reproductivo más afectado por las translocaciones recíprocas identificadas fue la prolificidad, y en menor medida la fertilidad. Además en el presente estudio se ha observado una reducción elevada de la fertilidad cuando las hembras fueron inseminadas con dosis seminales del verraco portador de la translocación rcp(3;14)(p14;q23).

La incidencia de las alteraciones cromosómicas estructurales estimada en la actualidad en porcino es de un 0,47% (Ducos *et al.*, 2007). La elevada incidencia de animales portadores de translocaciones recíprocas identificadas en este estudio (5,62%: 5 animales de un total de 89 analizados), sugiere el escaso control de la presencia de alteraciones citogenéticas que todavía existe en muchas poblaciones.

En los centros de inseminación artificial se realizan análisis rutinarios de contrastación seminal a partir de los eyaculados recogidos de los verracos. Sin embargo también pueden existir alteraciones genéticas o cromosómicas que no pueden ser detectadas mediante este tipo de análisis puesto que los animales afectados presentan espermiogramas normales. En la especie porcina existe una incidencia especialmente elevada de translocaciones cromosómicas recíprocas, debido probablemente a una fragilidad excesiva de los cromosomas porcinos a agentes mutágenos externos. Las consecuencias de estas translocaciones se manifiestan sobre la reproducción del animal portador, produciendo un descenso acusado de la prolificidad y/o de la fertilidad. La presencia de estas alteraciones únicamente puede ser detectada mediante la realización de análisis citogenéticos. Estas técnicas suponen una herramienta fundamental en el control de reproductores especialmente antes de su utilización en centros de inseminación artificial, con el fin de evitar las graves pérdidas económicas que supondría la diseminación de dosis seminales a gran escala de verracos con alteraciones cromosómicas.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

A continuación se exponen las conclusiones que derivan de los resultados obtenidos en el presente estudio en relación a los objetivos propuestos:

1. La presencia de alteraciones cromosómicas de tipo estructural en 5 verracos de los 89 analizados, demuestra la elevada incidencia que se puede encontrar de este tipo de anomalías cuando no existe un control citogenético de las poblaciones. Esta incidencia de un 5,62% es mucho mayor que la estimada para la presencia de alteraciones cromosómicas estructurales en la especie porcina (0,47% Ducos, 2007).
2. Las tres translocaciones recíprocas identificadas en este estudio: rcp(1;11)(q24;p13), rcp(3;14)(p14;q23) y rcp(3;18)(q14;q21), no se habían descrito hasta la actualidad en la especie porcina.
3. La inseminación de reproductoras con dosis seminales de los verracos portadores de las translocaciones recíprocas, provocaron una disminución generalizada en la eficiencia reproductora. Este efecto se observó incluso con la utilización de la doble o múltiple inseminación por cubrición, con la mitad de las dosis pertenecientes al verraco portador y la otra mitad a un verraco con cariotipo normal.
4. La fertilidad de las reproductoras cubiertas con dosis seminales de los verracos portadores de la translocación rcp(3;14)(p14;q23) se vio disminuida significativamente. El descenso de la fertilidad observado cuando todas las dosis seminales por cubrición pertenecían a un verraco portador fue de un 41,84%. Los verracos portadores de las otras dos translocaciones identificadas no tuvieron influencia sobre el porcentaje de fertilidad.
5. Las reproductoras inseminadas con los verracos portadores de las translocaciones recíprocas identificadas presentaron en general una disminución de la prolificidad. El número de lechones nacidos totales por camada disminuyó en la mayoría de los casos entre un 7,5% y un 20,25%, cuando el 50% de las dosis seminales utilizadas por cubrición pertenecían a uno de los verracos portadores de las translocaciones identificadas. Las cubriciones realizadas en pureza con un verraco portador de la

translocación rcp(1;11)(q24;p13), resultó en una reducción de la prolificidad de un 29,38%. El número de lechones nacidos vivos por camada se redujo significativamente entre un 8,46% y un 15,3% cuando el 50% de las dosis seminales de cada cubrición pertenecían a alguno de los verracos portadores de translocaciones.

6. El estudio sobre los parámetros espermáticos indicó que los verracos portadores de las translocaciones rcp(1;11)(q24;p13) y rcp(3;14)(p14;q23) presentaron ligeras diferencias respecto a los verracos contemporáneos del centro de inseminación con cariotipo normal. Estas diferencias fueron en parámetros de tipo cuantitativo y no cualitativo, con lo que no se pueden relacionar con efectos sobre los parámetros reproductivos de fertilidad o prolificidad.
7. En las camadas generadas por los dos verracos portadores de la translocación rcp(1;11)(q24;p13) se apreció una elevada incidencia no cuantificada de lechones poco viables y con diferentes grados de malformaciones que podría hacer incrementar el porcentaje de mortalidad post-parto. Estos lechones podrían ser portadores de la translocación desequilibrada pero con una letalidad relativamente baja, y con malformaciones compatibles con el desarrollo embrionario.
8. La presencia de translocaciones cromosómicas recíprocas en el cariotipo tienen repercusiones importantes sobre la reproducción del animal portador. El análisis citogenético de los reproductores porcinos, y en especial de los verracos de centros de inseminación, permitiría la detección precoz de estas alteraciones cromosómicas y evitaría así las consecuentes repercusiones económicas a nivel de las explotaciones porcinas.

ANEXO

8. ANEXO: Revisión de las alteraciones cromosómicas estructurales identificadas en la especie porcina.

Tabla 1: Listado de las translocaciones recíprocas identificadas en porcino

Cromosomas implicados								
Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
11	15	rcp(11;15)(p15;q13)	1964	Hënicson y Bäckström	♂ LD	Suecia	56% 34%	--
			1973	Hageltorn <i>et al.</i>				
1	11	rcp(1;11) mosaicismo celular	1970	Hansen-Melander y Melander	♂ Lechón LD	Suecia	--	Presencia de malformaciones en el lechón
6	15	rcp(6p+;15q-)	1974	Bouters <i>et al.</i>	♂ LD	Bélgica	macho estéril	--
13	14	rcp(13;14)(21;q27)	1976	Hageltorn <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Suecia	50%	--
1	6	rcp(1;6)(p11;q35)	1974	Locniskar <i>et al.</i> , 1976	♂ LW	Yugoslavia	26%	--
6	14	rcp(6;14)(p11;q11)	1978	Madan <i>et al.</i>	Intersexuado LW X Essex	Gran Bretaña	macho estéril	--
4	14	rcp(4;14)(p11;q11)	1979	Popescu y Legault	♂ LW X LD	Francia	43%	--
1	16	rcp(1;16)(q11;q11)	1981	Förster, 1982	LD	Alemania	--	--
7	11	rcp(7;11)(q21;q11)	1982	Gustavsson <i>et al.</i> , 1984	♂ Yorkshire	Suecia	50%	--
1	14	rcp(1;14)(q23;q21)	1982	Golish <i>et al.</i> citado por Popescu, <i>et al.</i> , 1988	Línea sintética	Alemania	5%	--
1	8	rcp(1;8)(p13;q27)	1983	Gustavsson <i>et al.</i>	♀ Yorkshire	Suecia	--	--
9	11	rcp(9;11)(p24;q11)	1983	Gustavsson <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Suecia	50%	--
7	15	rcp(7q-;15q+)	1983	Popescu <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	45%	--

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
3	7	rcp(3;7)(p13;q21)	1983	Popescu <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	45%	--
			1984	Bahri <i>et al.</i>				
5	14	rcp(5;14)(q11;q-)	1984	Popescu <i>et al.</i>	♂ Hampshire X P	Francia	28%	--
16	17	rcp(16; 17)(q23;q21)	1986	Popescu y Boscher	♂ LD X Duroc	Francia	36%	--
4	13	rcp(4;13)(q25;q41)	1986	Mäkinen y Remes	♂ LD	Finlandia	40%	--
1	14	rcp(1;14)(q17;q21)	1987	Tarocco <i>et al.</i>	♂ LW	Italia	34%	--
7	12	rcp(7;12)(q24;q15)	1987	Kuokkanen y Mäkinen	♂ Yorkshire	Finlandia	40%	Reducción de la fertilidad
1	3	rcp(1p-;3q+)	1987	Konovalov <i>et al.</i> (citado por Guillemot, 1995)	♂ LW	Rusia	--	--
12	15	rcp(12q+;15q-)	1987	Konovalov <i>et al.</i> (citado por Guillemot, 1995)	♂ LW	Rusia	--	--
1	14	rcp(1;14)(p25;q15)	1988b	Gustavsson <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Suecia	35%	--
1	17	rcp(1;17)(q21;q11)	1988b	Gustavsson <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Suecia	40%	5% malformaciones congénitas
5	8	rcp(5;8)(q12;q27)	1988b	Gustavsson <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Suecia	50%	3-12% malformaciones congénitas
1	7	rcp(1; 7)(q213;q24)	1988b	Gustavsson, <i>et al.</i>	♂ LD sueco	Suecia	50% (aprox.)	19% repeticiones
7	13	rcp(7; 13)(p13;q21)	1988b	Gustavsson, <i>et al.</i>	♂ Hampshire	Suecia	34%	24% mortalidad de lechones o lechones nacidos muertos
15	16	rcp(15;16)(q26;q21)	1988b	Gustavsson, <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Suecia	40%	21% repeticiones
1	15	rcp(1;15)(q27;q26)	1988	Popescu, <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	26%	--
			1990	Blaise <i>et al.</i>				
4	15	rcp(4;15)(4q-;15p+)	1988	Popescu <i>et al.</i>	♂ P	Francia	41%	--
			1990	Blaise <i>et al.</i>				

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
1	11	rcp(1;11)(p23;q15)	1988	Kuokkanen y Mäkinen	♂ LD	Finlandia	33%	Ligera reducción de la fertilidad
1	15	rcp(1;15)(p25;q13)	1988	Kuokkanen y Mäkinen	♂ LD	Finlandia	43%	Ligera reducción de la fertilidad
2	4	rcp(2;4)(p17;q11)	1988	Gustavsson <i>et al.</i> (citado por Kuokkanen y Mäkinen, 1988)	--	Suecia	--	--
17	11	rcp(17;11)	1988	Gustavsson <i>et al.</i> (citado por Kuokkanen y Mäkinen, 1988)	--	Suecia	--	--
X	13	rcp(X;13)(q24;q21)	1989	Gustavsson <i>et al.</i>	♂ Hampshire ♀ Hampshire	Suecia	macho estéril	--
13	17	rcp(13;17)	1990	Golish y Ritter (citado por Pinton, 2004)	--	--	--	--
1	11	rcp(1;11)(p25;p15)	1990	Tzocheva, 1994	LD Belga	Bulgaria	17,35%	--
1	18	rcp(1;18)	1991b	Villagomez <i>et al.</i>	♂ Hampshire	Suecia	45%	--
7	17	rcp(7;17)(q26;q11)	1991b 1995a	Villagomez <i>et al.</i>	♂ Hampshire	Suecia	41%	9% LNM y lechones malformados (39,XY,+der(17), rcp(7;17)(q26;q11))
X	14	rcp(X;14)	1991a	Villagómez <i>et al.</i>	--	--	macho estéril	--
		rcp(X;14)	1994	Singh <i>et al.</i>	♂ Yorkshire ♀ Yorkshire	Canadá	macho estéril	--
		rcp(X;14)(Xp+;14q-)	1998	Neal <i>et al.</i>	♂ y ♀	Canadá	♀ 50% ♂ estériles	--
		rcp(X;14)(Xp+;14q-)	2000	Koykul <i>et al.</i>	--	Canadá	--	--
16	17	rcp(16;17)	1991	Astachova (citado por Pinton, 2004)	LD X raza local vietnamita	--	--	--
12	13	rcp(12;13)(q13;q11)	1991	Astachova <i>et al.</i>	Minisib	Rusia	estéril	--

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
6	8	rcp(6;8)(q33;q26)	1991b	Bonneau <i>et al.</i>	♂ Gascon X Meishan	Francia	40,6%	--
6	15	rcp(6;15)(p15;q13)	1991b	Bonneau <i>et al.</i>	♂ P X LW	Francia	56,3%	--
3	7	rcp(3;7)	1991	Sharma <i>et al.</i>	Raza india	India	--	--
4	14	rcp(4;14)	1991	Sharma <i>et al.</i>	Raza india	India	--	--
5	15	rcp(5;15)(q25;q25)	1992	Parkanyi <i>et al.</i>	LD	--	estéril	--
8	14	rcp(8;14)(p23;q27)	1992	Ravaorimanana <i>et al.</i>	--	--	--	--
8	13	rcp(8;13)(q27;q36)	1992	Ravaorimanana <i>et al.</i>	--	--	--	--
7	8	rcp(7;8)(q13;q27)	1992	Ravaorimanana <i>et al.</i>	--	--	--	--
1	10	rcp(1;10)(q211;p15)	1992	Ravaorimanana <i>et al.</i>	--	--	--	--
14	15	rcp(14;15)(q29;q24)	1992	Gustavsson y Jonsson	♂ Hampshire	Suecia	16,3%	37% reducción LNV
1	6	rcp(1;6)(p11;q11)	1992	Yang <i>et al.</i>	LW	Suiza	30%	--
1	14	rcp(1;14)(q212;q22)	1992	Zhang <i>et al.</i>	--	USA	34,2%	--
2	14	rcp(2p14;14q23)	1993	Villagomez <i>et al.</i>	Hampshire	Suecia	41,3%	24% reducción fertilidad
7	15	rcp(7;15)(q24;q12)	1995	Konfortova <i>et al.</i>	LW	UK	--	--
8	14	rcp(8;14)(p21;q25)	1997	Danielak <i>et al.</i>	♂ LD	Polonia	25%	--
7	13	rcp(7;13)(q13;q46)	1997	Danielak <i>et al.</i>	♀ Duroc	Polonia	52%	--
7	15	rcp(7;15)(q24;q26)	1997	Mäkinen <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Finlandia	5,2 LNT/camada	--
1	9	rcp(1;9)(1p-;9p+)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♀ LW	Francia	25% (aprox.)	--
11	13	rcp(11q+;13q-)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	25% (aprox.)	--

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
3	13	rcp(3;13)(p15;q31)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	35%	--
15	17	rcp(15;17)(q13;q21)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	--	--
11	16	rcp(11;16)(p14;q14)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW X P	Francia	30%	--
6	14	rcp(6;14)(6q27;14q2)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW X P	Francia	35%	--
9	15	rcp(9;15)(p24;q13)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	LW X LD	Francia	41%	--
6	16	rcp(616)(6q11;16q11)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♂ Línea sintética	Francia	--	--
1	6	rcp(1;6)(1q12;6q22)	1998b	Ducos <i>et al.</i>	♂ Gascon	Francia	56%	--
13	17	rcp(13;17)(q41;q11)	1998a	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW X P	Francia	34%	--
3	5	rcp(3;5)(p14;q23)	1998a	Ducos <i>et al.</i>	♂ LD	Francia	43%	--
4	6	rcp(4;6)(q16;q28)	1998a	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	10%	--
6	13	rcp(6;13)(p15;q41)	1998a	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW X P	Francia	68%	--
2	14	rcp(2;14)(q13;q27).	1998a	Ducos <i>et al.</i>	♀ LD	Francia	--	--
8	10	rcp(8;10)(p1.1;q1.3)	1999	Mäkinen <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Finlandia	19%	--
4	12	rcp(4;12)(p13;q 13)	2000	Pinton <i>et al.</i>	♂ Línea sintética	Francia	--	--
1	7	rcp(1;7)(q17;q26)	2000	Pinton <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	36%	--
1	6	rcp(1;6)(q17;q35)	2000	Pinton <i>et al.</i>	♂ Línea sintética	Francia	--	--
2	3	rcp(2;3)(q27;q27)	2001	Citado por Ducos, 2002b	♂ LW	Francia	--	--
12	18	rcp(12;18)(12p11;18q13)	2001	Citado por Pinton, 2004a	LW	Francia	--	--
4	10	rcp(4;10)(p11;q11)	2001	Citado por Pinton, 2004a	--	Francia	--	--

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
4	6	rcp(4;6)(q21;p14)	2002b	Ducos, <i>et al.</i>	♂ P	Francia	--	--
2	6	rcp(2;6)(p17;q27)	2002b	Ducos, <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Francia	8,3 LNV/camada	--
5	17	rcp(5;17)(p12;q13)	2002b	Ducos, <i>et al.</i>	♂ Yorkshire	Francia	7,4 LNV/camada	--
5	8	rcp(5;8)(p11;q11)	2002b	Ducos, <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	--	--
15	17	rcp(15;17)(q24;q21)	2002b	Ducos, <i>et al.</i>	♂ LD	Francia	--	--
7	8	rcp(7;8)(q24;p21)	2002b	Ducos, <i>et al.</i>	♂ LD X Meishan	Francia	--	--
5	8	rcp(5;8)(p11;p23)	2002b	Ducos, <i>et al.</i>	♂ LW	Francia	--	--
2	8	rcp(2;8)(2p11;8p13)	2002	Citado por Pinton, 2004a	LW	Francia	--	--
4	5	rcp(4;5)(4p13;5q21)	2002	Citado por Pinton, 2004a	--	Francia	--	--
5	14	rcp(5;14)(5q21;14q12)	2002	Citado por Pinton, 2004a	Duroc	Francia	--	--
5	9	rcp(5;9)(5p11;9p24)	2002	Citado por Pinton, 2004a	LD	Francia	--	--
5	9	rcp(5;9)(5q21;9p13)	2002	Citado por Pinton, 2004a	LD	Francia	--	--
6	13	rcp(6;13)(6p13;13q49)	2002	Citado por Pinton, 2004a	LW	Francia	--	--
7	9	rcp(7;9)(7q15;9q15)	2002	Citado por Pinton, 2004a	LW	Francia	--	--
7	12	rcp(7;12)(7q11;12p15)	2002	Citado por Pinton, 2004a	P	Francia	--	--
12	14	rcp(12;14)(12q13;14q15)	2002	Citado por Pinton, 2004a	Duroc	Francia	--	--
17	18	rcp(17;18)(17q21;18q11)	2002	Citado por Pinton, 2004a	P	Francia	--	--
3	15	rcp(3;15)(q27;q13)	2003	Pinton <i>et al.</i> , 2003	♂ LW	Francia	23%	--
12	14	rcp(12;14)(q13;q21)	2003	Pinton <i>et al.</i> , 2003	♂ Línea sintética (Duroc y LW)	Francia	39%	--

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
3	16	rcp(3;16)(q23;q22)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2004	♂(LD X Duroc) X LW	Francia	--	--
1	13	rcp(1;13)(1q27;13q41)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ Duroc	Holanda	--	--
4	12	rcp(4;12)(4q21;12q13)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ Francia	Francia	--	--
7	9	rcp(7;9)(7q11;9q26)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	LW	Francia	--	--
7	14	rcp(7;14)(q26;q25)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ Línea Sintética	Holanda	--	--
7	10	rcp(7;10)(q13;q11)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ Línea Sintética	Holanda	--	--
9	17	rcp(9;17)(9p24;17q23)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ LD	Francia	--	--
12	14	rcp(12;14)(12q15;14q13)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ P	Francia	--	--
13	16	rcp(13;16)(13q41;16q21)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ --	Holanda	--	--
14	16	rcp(14;16)(14q13;16q21)	2003	(Citado por Pinton, 2004a)	♂ P	Francia	--	--
9	14	rcp (9;14)(p24;q15)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Línea sintética	Francia	--	--
13	15	rcp(13;15)(q31;q26)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ P	Francia	--	--
1	11	rcp(1;11)(q11;q11)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ P	Francia	--	--
4	13	rcp(4;13)(p15;q41)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ --	Holanda	--	--
1	17	rcp(1;17)(p11;q11)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ P	Holanda	--	--
8	12	rcp(8;12)(p11;p11)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ --	Holanda	--	--
11	17	rcp(11;17)(p13;q21)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♀ --	Francia	--	--
10	13	rcp(10;13)(q13;q22)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Línea sintética	Holanda	--	--
5	7	rcp(5;7)(q23;p11)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♀ --	Francia	--	--

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
2	9	rcp(2;9)(q13;q24)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	LW	Francia	--	--
14	15	rcp(14;15)(q28;q13)	2004	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♀ --	Francia	--	--
2	16	rcp(2;16)(q28;q21)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ --	Francia	--	--
4	15	rcp(4;15)(q25;q11)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ LD	Francia	--	--
10	17	rcp(10;17)(q11;q21)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ --	Holanda	--	--
1	15	rcp(1;15)(q17;q22)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Línea sintética	Holanda	--	--
7	14	rcp(7;14)(q15;q27)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ cruzado	Francia	--	--
4	16	rcp (4;16)(q25;q21)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Línea sintética	Holanda	--	--
10	11	rcp (10;11)(q16;q13)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ P	Francia	--	--
10 6	18 8	*rcp (10;18)(p11;q24) +t(6;8)(p15;q27)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ P	Francia	Macho estéril	--
2	17	rcp (2;17)(p12;q14)	2005	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♀ Duroc	Francia	--	--
10	17	rcp (10;17)(q11;q21)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	LW	Holanda	--	--
3	8	rcp (3;8)(q25;p21)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Línea sintética	Francia	--	--
2	14	rcp (2;14)(p15;q26)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♀ cruzada	Francia	--	--
Y	14	rcp (Y;14)(q10;q11)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Duroc	Francia	--	--
14	15	rcp (14;15)(q28;q13)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	--	Alemania	--	--
2	15	rcp (2;15)(q28;q24)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	--	Alemania	--	--
9	11	rcp (9;11)(q14;p13)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♀ Meishan	Francia	--	--
1	7	rcp (1;7)(q17;q13)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	--	Holanda	--	--

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad	Otras repercusiones
2	14	rcp (2;14)(q21;q24)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	--	Holanda	--	--
1	4	rcp (1;4)(q27;q21)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ P	Alemania	--	--
3	11	rcp (3;11)(q13;p11)	2006	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Línea sintética	Francia	--	--

LD: Landrace; LW: Large White; P: Pietrain; Aprox.: aproximadamente; LNT: lechones nacidos totales; LNV: lechones nacidos vivos; LNM: lechones nacidos muertos; ♂: macho; ♀: hembra.

*Dos translocaciones recíprocas identificadas simultáneamente en un mismo animal;

¹Año de identificación de la translocación.

²Se indica el año de publicación cuando difiere del año de identificación de la translocación.

Tabla 2: Listado de las translocaciones recíprocas identificadas en porcino entre tres cromosomas diferentes

Cromosoma 1	Cromosoma 2	Cromosoma 3	Translocación	Año ¹	Autores	Sexo/Raza	Origen	Reducción de la prolificidad
2	15	4	rcp(2p13;15q24;4p15)	1987	Mäkinen <i>et al.</i>	♂ LD	Finlandia	8.2 LNT/ camada
2	9	14	rcp(2;9;14)(q23;q22;q25)	1997	Mäkinen <i>et al.</i>	♂Yorkshire	Finlandia	3,3 LNT/camada

LD: Landrace; LNT: lechones nacidos totales; ♂: macho; ♀: hembra.

¹Año de identificación de la translocación.

Tabla 3: Listado de las translocaciones robertsonianas identificadas en porcino

Cromosomas implicados		Translocación	Año ¹	Autores ²	Sexo/ Raza
Cromosoma 1	Cromosoma 2				
13	17	rob (13;17)	1975	Masuda <i>et al.</i>	--
13	17	rob(13;17)	1977	Miyake <i>et al.</i>	--
13	17	rob (13;17)	1982	Alonso y Cantu	♀
13	17	rob(13;17)	1985	Schwerin <i>et al.</i> , 1986	4 ♂ LD
13	17	rob (13;17)	1994	Shan <i>et al.</i>	♂
13	17	rob(13;17)	2006	Ducos, <i>et al.</i> 2007	♂ LD francés
14	15	rob(14;15)	2005	Ducos, <i>et al.</i> 2007	♂ LD francés
14	17	rob(14;17)	2006	Ducos, <i>et al.</i> 2007	♂ --
16	17	rob(16;17)	1991	Astachova <i>et al.</i>	--

LD: Landrace; ♂: macho; ♀: hembra

¹Año de identificación de la translocación.

²Se indica el año de publicación cuando difiere del año de identificación de la translocación.

Tabla 4: Listado de las inversiones identificadas en porcino

Cromosoma	Inversión	Año ¹	Tipo	Autores ²	Sexo / Raza
1	inv(1)(p21;q11)	1994	pericéntrica	Miyake <i>et al.</i>	♀
1	inv (1)(p221;q11)	1996	pericéntrica	Danielak-Czech <i>et al.</i>	♀ LD
1	inv(1)(q18;q24)	1997	paracéntrica	Ducos, <i>et al.</i> , 2002	LW
1	inv(1)(p21;q21)	2000	pericéntrica	Ducos, <i>et al.</i> , 2002	LD francés
1	inv(1)(p24;q29)	2000	pericéntrica	Pinton, 2004a	♂ Línea sintética
2	inv(2)(p13;q11)	2000	pericéntrica	Pinton <i>et al.</i>	♂ Línea sintética
2	inv(2)(p11;q21)	2002	pericéntrica	Pinton, 2004	P
2	inv(2)(q13;q25)	2006	paracéntrica	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ Duroc
2	inv(2)(p11;q11)	2008	pericéntrica	Massip <i>et al.</i>	♂ -
2*	inv(2)(p13;q12) + t(13;14)(q31;q21)	2005	pericéntrica	Ducos <i>et al.</i>	♂ Línea sintética
4	inv(4)(p14;q23)	1997	pericéntrica	Ducos <i>et al.</i>	♂ LW
6	inv(6)(p14;q12)	2004	pericéntrica	Ducos <i>et al.</i> , 2007	--
8	inv(8)(p11;p12)	1991	paracéntrica	Switonski <i>et al.</i>	♂ LD
8	inv(8)(p11;q25)	2002	pericéntrica	Pinton, 2004a	LW
8	inv(8)(p21;q11)	2004	pericéntrica	Ducos <i>et al.</i> , 2007	♂ P
9	inv(9)(p12;p22)	1999	paracéntrica	Pinton <i>et al.</i> , 2002	♂ Línea sintética
16	inv16(q13;q23)	1999	paracéntrica	Pinton, 2004a	--

LD: Landrace; LW: Large White; P: Pietrain; ♂: macho; ♀: hembra.

*Se trata de un animal que presentaba una inversión y una translocación en el cariotipo simultáneamente.

¹Año de identificación de la translocación.

²Se indica el año de publicación cuando difiere del año de identificación de la translocación.

***ÍNDICE DE FIGURAS
Y TABLAS***

9. ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Grados de condensación del ADN (modificado de Luque y Herráez, 2006)	10
Figura 2: Esquema de un cromosoma metafásico	13
Figura 3: Tipos de cromosomas	13
Figura 4: Idiograma de bandas G del cromosoma 1 porcino	19
Figura 5: Idiograma de bandas G del cariotipo porcino (Gustavsson, 1988)	21
Figura 6: Ciclo celular	23
Figura 7: Etapas de la mitosis celular (adaptado de Alberts <i>et al.</i>)	25
Figura 8: Etapas de la profase I de la meiosis (adaptado de Alberts., <i>et al.</i>)	28
Figura 9: Formación de una inversión pericéntrica	33
Figura 10: Formación de una translocación Robertsoniana	35
Figura 11. Representación esquemática de una translocación recíproca entre los cromosomas 1 y 2 del cerdo rcp(1q;2p+)	36
Figura 12: Puntos frágiles del cariotipo porcino en el idiograma de bandas RBG (resolución de 600 bandas)(Ronne, 1995)	48
Figura 13: Segregación alternante en un portador de una translocación recíproca	51
Figura 14: Segregación adyacente I en un portador de una translocación recíproca	52
Figura 15: Segregación adyacente II en un portador de una translocación recíproca	52
Figura 16: Segregación 3:1 en un portador de una translocación recíproca	53
Figura 17: Hendidura palatina en un lechón (Ducos <i>et al.</i> 2004)	67
Figura 18: Cariotipo de un lechón nacido con malformaciones con cariotipo 38,XX der16t(3;16)(q23;q22) con dos cromosomas 3 normales un cromosoma 16 normal y uno translocado (Ducos <i>et al.</i> 2004)	68
Figura 19: Esquema del diseño experimental	78
Figura 20: Extracción de sangre de un cerdo (Coll y Morillo, 2005)	80
Figura 21: Fórmula del Colcemid	81
Figura 22: Actuación de la colchicina sobre la mitosis	82

Figura 23: Etapas de la técnica de obtención de preparaciones cromosómicas a partir del cultivo de linfocitos	85
Figura 24: Análisis microscópico informatizado del cariotipo	86
Figura 25: Cariotipo normal de un verraco	87
Figura 26. 26.A: Cariotipo de bandas G del verraco 1 de la población A, rcp(1;11)(q24;p13). 26.B: imagen de la metafase. 26.C: Detalle de la translocación	97
Figura 27: Influencia de la participación del verraco portador de la translocación sobre el número de lechones nacidos por parto	100
Figura 28: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición	101
Figura 29. 29.A: Cariotipo de bandas G del verraco 2 de la población A, rcp(1;11)(q24;p13). 29.B: imagen de la metafase. 29.C: Detalle de la translocación	103
Figura 30: Influencia de la participación del macho portador de la translocación sobre el número de lechones nacidos por parto	106
Figura 31: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición	107
Figura 32: Lechones nacidos de las camadas de los verracos 1 y 2. 32.1: Lechones débiles. 32.2: Fisura palatina. 32.3: Malformaciones de aplomos en los miembros anteriores	109
Figura 33. 33.A: Cariotipo de bandas G del verraco 3 de la población B, rcp(3;14)(p14;q23). 33.B: imagen de la metafase. 33.C: Detalle de la translocación	113
Figura 34: Comparación del número de lechones nacidos por parto según el macho utilizado en las cubriciones	115
Figura 35: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición	116
Figura 36: Comparación de la tasa de fertilidad según el macho utilizado en las cubriciones	117
Figura 37. 37.A: Cariotipo de bandas G del verraco 4 de la población B, rcp(3;14)(p14;q23). 37.B: imagen de la metafase. 37.C: Detalle de la translocación	119
Figura 38: Comparación del número de lechones nacidos por parto según el macho utilizado en las cubriciones	122

Figura 39: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) según la participación del macho portador en la cubrición	124-25
Figura 40: Influencia sobre la tasa de fertilidad del porcentaje de participación del verraco 4 portador de la translocación	127
Figura 41: 41.A: Cariotipo de bandas G del verraco 5 de la población B, rcp(3;18)(q14;q21). 41.B: imagen de la metafase. 41.C: Detalle de la translocación	130
Figura 42: Comparación del número de lechones nacidos por parto según el macho utilizado en las cubriciones	133
Figura 43: Distribución de frecuencias del tamaño de camada (nacidos vivos) Según la participación del macho portador en la cubrición	134-35

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Número cromosómico en diferentes especies animales	14
Tabla 2: Nomenclatura de los bandeos cromosómicos (Lacadena, 1996)	17
Tabla 3: Códigos de la Nomenclatura Citogenética Standard Internacional	37
Tabla 4: Descripción de las poblaciones de estudio	79
Tabla 5: Influencia sobre el tamaño de camada de la participación del verraco 1 portador de la translocación en las cubriciones	98
Tabla 6: Efecto sobre la fertilidad de la participación del verraco 1 portador de la translocación en las cubriciones	102
Tabla 7: Influencia sobre el tamaño de camada de la participación del verraco 2 portador de la translocación en las cubriciones	105
Tabla 8: Efecto sobre la fertilidad de la participación del verraco 2 portador de la translocación en las cubriciones	108
Tabla 9: Influencia de la presencia de la translocación recíproca en los verracos 1 y 2 sobre la calidad espermática	110
Tabla 10: Influencia sobre el tamaño de camada de la participación del verraco 3 portador de la translocación en las cubriciones	114
Tabla 11: Efecto sobre la fertilidad de la participación del verraco 3 portador	

de la translocación en las cubriciones	117
Tabla 12: Influencia sobre el tamaño de camada de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 4 portador de la translocación en las cubriciones	121
Tabla 13: Efecto sobre la fertilidad de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 4 portador de la translocación en las cubriciones	126
Tabla 14: Influencia de la presencia de la translocación recíproca en los verracos 3 y 4 sobre la calidad espermática	129
Tabla 15: Influencia sobre el tamaño de camada de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 5 portador de la translocación en las cubriciones	132
Tabla 16: Efecto sobre la fertilidad de las explotaciones 1 y 2 de la participación del verraco 4 portador de la translocación en las cubriciones	136
Tabla 17: Influencia de la presencia de la translocación recíproca en el verraco 5 sobre la calidad espermática	137
Tabla 18: Resumen de los casos identificados de verracos portadores de translocaciones cromosómicas recíprocas en las dos poblaciones de estudio de estudio	138
Tabla 19: Resumen comparativo de la influencia sobre los parámetros reproductivos de las translocaciones cromosómicas identificadas	139
Tabla 20: Porcentaje de reducción del número de lechones nacidos vivos por camada en las cubriciones realizadas con el 50% de las dosis seminales de los verracos portadores	150

ANEXO

	Página
Tabla 1: Listado de las translocaciones recíprocas identificadas en porcino	167
Tabla 2: Listado de las translocaciones recíprocas identificadas en porcino entre tres cromosomas diferentes	175
Tabla 3: Listado de las translocaciones robertsonianas identificadas en porcino	176
Tabla 4: Listado de las inversiones identificadas en porcino	177

BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

Akeson, A. y Henricson, B. (1972). Embryonic death in pigs caused by unbalanced karyotype. *Acta Veterinaria Scandinavica* 13: 151-160.

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Watson, J. (1994). *Biología Molecular de la Célula*. Ed. Omega, Barcelona.

Alonso, R.A. y Cantu, J.M. (1982). A Robertsonian translocation in the domestic pig (*Sus Scrofa*) 37,XX,-13,-17,t rob(13;17). *Annales de Génétique* 25(1): 50-52.

Anderson, J. (1945). The semen of animals and its use for artificial insemination. Tech.Comm. Imperial Bureau of Animal Breeding Genetics, Edinburgh.

Anton, E., Blanco, J., Egozcue, J. y Vidal, F. (2002). Risk assessment and segregation analysis in a pericentric inversion inv(6)(p23q25) carrier using FISH on decondensed sperm nuclei. *Cytogenetics and Genome Research* 97:149-154.

Anton E., Blanco J., Egozcue J. y Vidal F. (2005). Sperm studies in heterozygote inversion carriers: a review. *Cytogenetics Genome Reserach* 111: 297-304.

Aparicio, R. D. (1960). Estudio citogenético de la espermatogénesis en el cerdo. *Archivos de Zootecnia* 9:103.

Ashley, T. (1988). G-band position effects on meiotic synapsis and crossing over. *Genetics* 118(2): 307-317.

Astakhova, N.M., Vysotskaia, L.V., Grafodatskiĭ, A.S. (1988). Detailed analysis of a new translocation in a domestic pig (artículo en ruso). *Tsitol. Genet.* 22(5):26-9.

Astachova, N. M., Vysotskaya, L. V. y Graphodatsky, A. S. (1991). Detailed analysis of a new translocation in pig. *Genetics Selection Evolution* 23: 65-69.

Bahri, I., Bonneau, M., Boscher, J. y Popescu, C.P. (1984). 6th European Colloquium in Domestic Animals, Zürich: 275-289.

Baudat, F., Manova, K., Yuen, J.P., Jasin, M. y Keeney, S. (2000). Chromosome synapsis defects and sexually dimorphic meiotic progresión in mice lacking Spo11. *Molecular Cell* 6: 989-998.

Bazer, F. W., Thatcher, W.W., Martinat-Botte, F. y Terqui, M. (1988). Conceptus development in large white and prolific Chinese Meishan pigs *Journal of Reproduction and Fertility* 84: 37-42.

BDporc. Base de Datos de Referencia del Porcino Español. <http://www.bdporc.irta.es/>

Bella, J. L., Fernández, J. L. y Gosálvez, J. (1995). C-banding plus fluorochrome staining shows differences in C-, G-, and R-bands in human and mouse metaphase chromosomes. *Genome* 38: 864-868.

Benet, J., Oliver-Bonet, M., Cifuentes, P., Templado, C. y Navarro, J. (2005). Segregation of chromosomes in sperm of reciprocal translocation carriers: a review. *Cytogenetics and Genome Research* 111: 281-290

Bertani, G. R., Scheid, I., Irgang, R., Barioni Júnior, W., Wentz, I. y Afonso, S. B. (2002). Gonadal sperm reserve in purebred Landrace and Large White boars of high average daily gain. *Theriogenology* 57(2): 859-867.

Bickmore, W.A., y Sumner, A.T.. (1989). Mammalian chromosome banding- an expression of genome organization. *Trends Genetics* 5:144-148.

Blaise, F., Aycardi, J., Boscher, J. y Popescu, C.P. (1990). Flow cytometry of normal and abnormal pig karyotypes. Preliminary report. *Annales de Génétique* 33(3): 146-51.

Blanco, J., Egozcue, J., Clusellas, N. y Vidal, F. (1998). FISH on sperm heads allows the analysis of chromosome segregation and interchromosomal effects in carriers of structural rearrangements: results in a translocation carrier, t(5;8)(q33;q13). *Cytogenetics and Cell Genetics* 83: 275-280.

Bolet, G. (1986). Timing and extent of embryonic mortality in pigs, sheep and goats: genetic variability. In: *Embryonic mortality in Farm Animals*. Eds: J.M. Screenan & M.G. Diskin, Belclare, Tuam, Eire: 12-43.

Bonneau, M., J. Boscher, C. P. Popescu y C. Legault (1991a). Conséquences zootechniques des translocations réciproques dans un troupeau expérimental porcin: incidence économique. *Journées de la Recherche Porcine* 23: 395-400.

Bonneau, M., J. Boscher, J. J. Delate, C. Legault y C. P. Popescu (1991b). Two novel reciprocal translocations involving chromosome 6 in the domestic pig. *Annales de Génétique* 34(2): 65-69.

Bouters, R., Bonte, P. y Vandeplasseche, M. (1974). *Proc. 1st. Wld. Cong. Genet. Liv. Prod.* Madrid, Spain II, 169-171.

Breeuwsma, A. J. (1968). A case of XXY sex chromosome constitution in an intersex pig. *Journal of Reproduction and Fertility* 16: 119-120.

Bruere, A.N., Fielden, E.D., Hutchings, H. (1968). XX-XY mosaicism in lymphocyte cultures from a pig with freemartin characteristics. *N. Z. Vet. J.* 16 (3): 31-8.

Bryden, W. (1933). The chromosomes of the pig. *Cytologia* 5:149.

Caspersson, T., Farber, S., Foley, G.E., Kudynowski, J., Modest, E.J., Simonsson, E., Wagh, V. y Zech, L. (1968). Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Experimental Cell Research* 49: 219-222.

Caspersson, L. y Johansson, C. (1970). Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents. *Exp. Cell Res.* 62: 490-492.

Chandley, A.C., Fletcher, J.M., Rosedale, P.D., Peare, C.K., Ricketts, S.W., M.C. Enery, R.J., Thorne, J.P., Short, R.V. y Allen, W.R. (1975). *Journal of Reproduction and Fertility* 23: 377-383.

Chicago Conference. (1966). Standardization in human cytogenetics. *Birth Defects Orig Artic Ser* 2.

Chow, P.H. y Pang, S.F. (1989). Ultrastructure of secretory cells of male accessory sex glands of golden hamster (*Mesocricetus auratus*) and effect of melatonin. *Acta Anatomica* 134(4): 327-340.

Christensen, K. y Nielsen, P.B. (1980). A case of blood chimerism (XX, XY) in pigs. *Animal blood groups and biochemical genetics* 11 (1): 55-57.

- Cifuentes, P., Navarro, J., Blanco, J., Vidal, F., Míguez, L., Egozcue, J y Benet, J. (1999). Cytogenetic analysis of sperm chromosomes and sperm nuclei in a male heterozygous for a reciprocal translocation t(5;7)(q21;q32) by in situ hybridisation. *European Journal of Human Genetics* 7: 231-238.
- Clark, L.K. y Leman, A.D. (1986). Factors that influence litter size in pigs (I y II). *Pig News and Information*, 1986, Vol. 7, 3 y 4: 303-310 y 431-437.
- Clarkson, B.G., Fisher, K.R. y Partlow, G.D. (1995). Agonal dal presumptive XX/XY leukochimeric pig. *Anatomical Record* 242 (2): 195-199.
- Claus, R. y Weiler, U. (1985). Influence of light and photoperiodicity on pig prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 55, 185-197.
- Coll, T. y Morillo, A. (2005). Extracción de sangre en cerdas, cerdos de cebo y lechones en maternidad. *Suis* 19: 36-38.
- Counce, S.J. y Meyer, G.F. (1973). Differentiation of the synptonemal complex and the kinetochore in *Locusta* spermatocytes studied by whole mount electron microscopy. *Chromosoma* 44: 231-253.
- Daniel, A. (1979). Structural differences in reciprocal translocations. Potential for a model of risk in Rcp. *Human Genetics* 51: 171 - 182.
- Danielak-Czech, B., Kozubska-Sobocinska, A., Slota, E., Rejduch, B. y Kwaczynska, A. (1996). Preliminary identification of pair 1 chromosome rearrangement in the polish landrace sow. *Archivos de Zootecnia* 45: 215-219.
- Danielak-Czech, B., Switonski, M. y Slota, E. (1997). First identification of reciprocal translocations in Polish pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 114: 69-78.
- Daza, A. (1992). Manejo de la Reproducción en el ganado porcino. Ed. Mundiprensa (Madrid). pp.160.
- De Boer, P. y De Jong, J.H. (1989). Chromosome pairing and fertility in mice. *Fertility and Chromosome Pairing: Recent Studies in Plants and Animals*. Ed C. B. Gillies, CRC Press, Boca Raton, Fla, p. 37-76.
- De Braekeleer, M. y Dao, T.N. (1991). Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Human Reproduction* 6(2):245-250.
- Denver Conference (1960). A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *Lancet* 1:1063-1065.
- DiBerardino, D., Hayes, H., Fries R. y Long, S. (1990). International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals 1989. *Cytogenetics and Cell Genetics* 53: 65-79.
- Ducos, A., Berland, H., Pinton, A., Séquela, A. y Darré, R. (1996). Un reproducteur porcine de qualité doit être indemne d'anomalie chromosomique. *Revue de Médecine Vétérinaire* 147.
- Ducos, A., Berland, H., Pinton, A., Séguéla, A., Blanc, M. F., Darré, A., Sans, P. y Darré, R. (1997). Les Translocations réciproques chez le porc: état de lieux et perspectives. *Journées de la Recherche Porcine* 29.

- Ducos, A., Pinton, A., Berland, H., Seguela, A., Blanc, M. F., Darre, A. y Darre, R. (1998a). Five new cases of reciprocal translocation in the domestic pig. *Hereditas* 128: 221 - 229.
- Ducos, A., Berland, H., Pinton, A., Guillemot, E. P. P., Seguela, A., Blanc, M. F., Darre, A. y Darre, R. (1998b). Nine new cases of reciprocal translocation in the domestic pig (*Sus scrofa domestica* L.). *Journal of Heredity* 89: 136-142.
- Ducos, A., Berland, H.-M., Pinton, A., Seguela, A., Brun-Baronnat, C., Darre, A. y Darre, R. (2000). Contrôle chromosomique des populations animales d'élevage. *INRA Productions Animales* 13(1): 25-25.
- Ducos, A., Pinton, A., Yerle, M., Seguela, A., Berland, H.M. Brun-Baronnat, C., Bonnet, N. y Darre, R. (2002a). Cytogenetic and molecular characterization of eight new reciprocal translocations an the pig species. Estimation of their incidence in french populations. *Genetics Selection Evolution*, 34: 389-406.
- Ducos, A., Pinton, A., Berland, H.M., Seguela, A., Brun-Baronnat, C., Bonnet, N. y Darre, R. (2002b). Contrôle chromosomique des populations porcine en France: bilan de cinq années d'activité. *Journées de la Recherche Porcine* 34: 269-275.
- Ducos, A., Pinton, A., Berland, H.M., Seguela, A., Brun-Baronnat, C., Bonnet, N., Darre, R. y Milan, D. (2004). Cleft palate associated with an unbalanced karyotype in piglets sired by a heterozygous carrier boar with a balanced constitutional reciprocal translocation. *Veterinary Records* 154: 659-661
- Ducos, A., Berland, H., Bonnet, N., Calgaro, A., Billoux, S., Mary, N., Garnier-Bonnet, A., Darre, R. y Pinton, A. (2007). Chromosomal control of pig populations in France: 2002-2006 survey. *Genetics Selection Evolution* 39: 583-597.
- Dutrillaux, B. y Lejeune, J. (1971). Sur un nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 273: 2638-2640.
- Dyban, A., Freidine, M., Severova, E., Cieslak, J., Ivakhnenko, V., y Verlinsky, Y. (1996). Detection of aneuploidy in human oocytes and corresponding first polar bodies by fluorescent in situ hybridization. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 13:73-78.
- Dyce, K.M., Sack, W.O. y Wensing, C.J.G. (1999). *Anatomía Veterinaria*. McGraw-Hill Interamericana, México, pp 952.
- Dziuk, P.J. (1979). Control and mechanisms of parturition in the pig. *Animal Reproduction Science* 2, 335-342.
- Dziuk, P.J. (1991). Reproduction in the pig. In: *Reproduction in domestic Animals*. Ed. Cupps, P.T. 4th edition. Academic Press, New York: 471-489.
- Edwards, M.J. y Mulley, R.C. (1992). Genetic, Developmental, and Neoplastic Diseases. In: *Diseases of Swine*. 7ª Ed. Iowa State University Press: 703-704
- Epstein, C.J. y Trevis, B. (1979). Preimplantation lethality of monosomy for mouse chromosome 19. *Nature* 20: 144-145.
- Estop, A.M., Van Kirk, V. y Cieply, K. (1995). Segregation analysis of four translocations, t(2;18), t(3;15), t(5;7) and t(10;12), by sperm chromosome studies and a review of the literature. *Cytogenetics and Cell Genetics* 70: 80-87.

Eurostat. (2007). Statistical Office of the European Communities
<http://epp.eurostat.ec.europa.eu>.

Falkenberg, H., Pfeiffer, H. y Ritter, E. (1992). Effect of age and environmental factors on semen production in AI boars. *Archiv für Tierzucht* 35 (6): 581-590.

FAO. (2004). Global Livestock Production and Health Atlas.
<http://www.fao.org/ag/aga/glipha>.

Ford, C.E. y Hamerton, J.L.(1956). The chromosomes of man. *Nature* 178: 1020-38.

Ford, C. E., Pollock D. L. y Gustavsson, I. (1980). Proceedings of the First International Conference for the Standardisation of Banded Karyotypes of Domestic Animals. *Hereditas* 92: 145-162.

Förster, M., Willeke, H. y Richter, L. (1981). *Zuchthygiene*, 16: 54-57.

Förster, M. (1982). Centromeric heterochromatin exchange by an autosomal reciprocal 1/16 translocation in the pig (*Sus scrofa domestica*). *Annales de Génétique et de Sélection Animale* 14(3): 279-286.

Fries, R. y Stranzinger, G. (1982). Chromosomal mutations in pigs derived from X-irradiated semen. *Cytogenetics and Cell Genetics* 34(1-2): 55-66.

Gabriel-Robez, O., Rumpler, Y., Batanian, J., Chandley, A.C., Couturier, J., Croquette, M.F., Delafontaine, D., Goldman, A., Guichaoua, M.R., Hargreave, T.B., Hulten, M.A., Johannisson, R., Lemarec, B., Luciani, J.M., McBeath, S., Deperdigo, A., Ratomponirina, C., Rigot, J.M., Saadallah, N., Taillemite, J.L., Speed, R.M. y Yorton, L. (1994). The meiotic pairing behaviour in human spermatocytes carrier of chromosome anomalies and their repercussions on reproductive fitness. I. Inversions and insertions. A European collaborative study. *Annales de Génétique* 37:1.

Gabriel-Robez, O. y Rumpler, Y. (1996). The meiotic pairing behaviour in human spermatocytes carrier of chromosome anomalies and their repercussions on reproduction fitness. II. Robertsonian and reciprocal translocations. A collaborative study. *Annales de Génétique* 39: 17-25.

Gadea, J. (1997). Predicción de la fertilidad "in vitro" de los eyaculados de verracos mediante parámetros rutinarios de contrastación seminal, pruebas bioquímicas y el test homólogo de penetración "in vitro". Tesis doctoral. Universidad de Murcia.

Gadea, J. y Matas, C. (2000). Sperm factors related to in Vitro penetration of porcine oocytes. *Theriogenology* 54: 1343-1357.

Glover, T.W., Berger, C., Coyle, J. y Echo, B. (1984). DNA polymerase inhibition by aphidicolin induces gaps and breaks at common fragile sites in human chromosomes. *Human Genetics* 67: 136-142.

Goeritz, F., Quest, M., Wagener, A., Fassbender, M., Broich, A., Hildebrandt, T.B., Hofmann, R.R. y Blottner, S. (2003). Seasonal timing of sperm production in roe deer: interrelationship among changes in ejaculate parameters, morphology and function of testis and accessory glands. *Theriogenology*, 59:1487-1502.

Golish, D., Ritter, E. y Schwerin, M. (1982). *Archiv. Tierzucht*, 25(4), 337-344.

Golish, D. y Ritter, E. (1990). *Tierzucht*, 44(2): 86-88.

Gottreich, A., Hammel, I., Yogev, L. Y Terkel, J. (1996). Quantitative microscopic changes in the mole rat's accessory sex organs during an annual cycle. *Anatomical Record* 246(2):231- 237.

Gottreich, A., Hammel, I., Yogev, L. Y Terkel, J. (2000). Effect of photoperiod variation on testes and accessory sex organs in the male blind mole rat *Spalax ehrenbergi*. *Live Science* 67:521-529.

Graham, E.F., Thompson, L. y Neville, W. (1967). Physical, physico-chemical and chemical characteristics of boar semen. University of Minnesota p. 3-11.

Guillemot, E. P. P. (1995). Les translocations réciproques. Synthèse bibliographique. Tesis doctoral. Université Paul Sabatier de Toulouse.

Gustavsson, I. (1969). Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in swedish cattle. *Hereditas* 63: 68-169.

Gustavsson, I., Hageltorn, M., Johansson, C. y Zech, L. (1972). Identification of the pig chromosomes by the quinacrine mustard fluorescence technique. *Experimental Cell Research* 70(No.2): 471-478.

Gustavsson, I., I. Settergren y W. A. King (1983). Occurrence of two different reciprocal translocations in the same litter of domestic pigs. *Hereditas* 99(2): 257-267.

Gustavsson, I. y Settergren, I. (1984). Reciprocal chromosome translocation with transfer of centromeric heterochromatin in the domestic pig karyotype. *Hereditas* 100(1):1-5.

Gustavsson, I. (1988a). Standard Karyotype of the Domestic Pig. *Hereditas* 109: 151-157.

Gustavsson, I. (1988b). Reciprocal translocation in four boars producing decreased litter size. *Hereditas* 109: 159-168.

Gustavsson, I., M. Switonski, K. Larsson, L. Plöen y K. Höjer (1988). Chromosome banding studies and synaptonemal complex analyses of four reciprocal translocations in the domestic pig. *Hereditas* 109: 169-184.

Gustavsson, I., Switonski, M., Iannuzzi, L., Plöen, L. y Larsson, K. (1989). Banding studies and synaptonemal complex analysis of an X-autosome translocation in the domestic pig. *Cytogenetics and Cell genetics* 50: 188-194.

Gustavsson, I. (1990). Chromosomes of the pig. *Domestic Animals Cytogenetics, Advances in veterinary Sciences and Comparative Medicine*. Ed. Mc. Feely. San Diego, Inc, A.P.: 73-107.

Gustavsson, I. y Jönsson, L. (1992). Stillborns, partially monosomic and partially trisomic, in the offspring of a boar carrying a translocation: rcp(14;15)(q29;q24). *Hereditas* 171: 31-37.

Hageltorn, M., Gustavsson, I. y Zech, L. (1973). The Q- and G-banding patterns of a t(11p+; 15q-) in the domestic pig. *Hereditas* 75(1): 147-151.

Hageltorn, M., Gustavsson, I. y Zech, L. (1976). Detailed analysis of a reciprocal translocation (13q-;14q+) in the domestic pig by G- and Q-staining techniques. *Hereditas* 83: 268-272.

Hance, R. T. (1917). The diploid chromosome complexes of the pig (*Sus scrofa*) and their variations. *Journal of Morphology* 30:155.

Hancock, J. L. y Daker, M. G. (1981). Testicular hypoplasia in a boar with abnormal sex chromosome constitution (39 XXY). *Journal of Reproduction and Fertility* 61(2): 395-397.

Hansen, K. M. (1977). Identification of the chromosomes of the domestic pig (*Sus scrofa domestica*). An identification key and a landmark system. *Annales de Génétique et de Sélection Animale* 9(4): 517-526.

Hansen-Melander, E. y Melander, Y. (1970). Mosaicism for translocation heterozygosity in a malformed pig. *Hereditas* 64: 199-202.

Hassanane, M., Kovacs, A., Laurent, P., Lindblad, K. y Gustavsson, I. (1999). Simultaneous detection of X- and Y-bearing bull spermatozoa by double colour fluorescence in situ hybridization. *Molecular Reproduction and Development* 53: 407-412.

Henricson, B. y Bäckström, L. (1964). Translocation heterozygosity in a boar. *Hereditas* 52: 166-170.

Honda, H., Miharu, N., Samura, O., He, H. y Ohama, K. (2000). Meiotic segregation analysis of a 14;21 Robertsonian translocation carrier by fluorescence in situ hybridization. *Human Genetics* 106: 188-193.

Hurtgen, J.P., Leman, A.D., y Crabo, B. (1980). Seasonal influence on estrous activity in sows and gilts. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 176, 119-123.

ISCN 1995. International System for Human Cytogenetics Nomenclature. Ed. Mittelman, F. Karger, Basel, Switzerland.

Ivanov E.I. (1922). On the use of artificial insemination for zootechnical purposes in Russia. *Journal of Agricultural Science* 12: 244-256.

Jaafar, H., Gabriel-Robez, O., Ratomponirina, C., Boscher, J., Bonneau, M., Popescu, C. P. y Rumpler, Y. (1989). Analysis of synaptonemal complexes in two fertile heterozygous boars, both carriers of a reciprocal translocation involving an acrocentric chromosome. *Cytogenetics and Cell genetics* 50(4): 220-5.

Jaarola, M., Martin, R.H. y Ashley, T. (1998). Direct evidence for suppression of recombination within two pericentric inversions in humans: a new sperm-FISH technique. *American Journal of Human Genetics* 63: 218-224.

Johnson, L.A., Weitze, K.F, Fiser, P. y Maxwell, W.M.C. (2000). Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science* 62:143-172.

Kaiser-Rogers, K. y Rao, K. (1999). Structural chromosome rearrangements. The principles of clinical cytogenetics. Eds. Gersen S.L. y Keagle M.B. Humana Press, Totowa, New Jersey.

Kasai, S., Chuma, S., Motoyama, N. y Nakatsuji, N. (2003). Haploinsufficiency of *Bcl-x* leads to male-specific defects in fetal germ cell: differential regulation of germ cell apoptosis between the sexes. *Developmental Biology* 264:202-216.

Kawarasaki, T., Welch, G. R., Long, C. R., Yoshida, M. y Johnson, L. A. (1998). Verification of flow cytometrically-sorted X-and Y-bearing porcine spermatozoa and reanalysis of spermatozoa for DNA content using the fluorescence in situ hybridization (FISH) technique. *Theriogenology* 50: 625-635.

Kemp, B., Bakker, G.C.M., Hartog, L.A. Den, y Verstegen, M.W.A. (1991). The effect of semen collection frequency and food intake on semen production in breeding boars. *Animal Production* 52, 355-360.

Kennedy, B.W. y Wilkins, J.N. (1984). Boar, breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in artificial insemination. *Canadian Journal of Animal Science* 64: 833-843.

Kermabon, A., Prunier, A., Djiane, J. y Salesse, R. (1995). Gonadotropins in lactating sows exposed to long or short days during pregnancy and lactation: serum concentrations and ovarian receptors. *Biology of Reproduction* 53:1095-1102.

King, W. A., Gustavsson, I., Popescu, C. P. y Linares, T. (1981). Gametic products transmitted by rcp (13q-;14q+) translocation heterozygous pigs, and resulting embryonic loss. *Hereditas* 95(2): 239-246.

King, W. A. (1981). Meiotic behaviour of a rcp (13q-;14q+) translocation in heterozygous pigs. *Hereditas* 94(2): 235-240.

King, W.A. (1990). Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. In: *Advances in veterinary science and comparative medicine*. Ed. McFeely R.A. Vol 24: 229-250.

Konfortova, G. D., Millar, N. G. A. y Tucker, E. M. (1995). A new reciprocal translocation (7q+15q-) in the domestic pig. *Cytogenetics and Cell Genetics* 71(3): 285-288.

Kondracki, S., Banaszewska, D., Wysokinska, A. y Kosieradzka, J. (2004). Effect of age on semen traits of young landrace boars. *J Agrobiol Ecol* 1: 112-117.

Kondracki, S., Banaszewska, D. y Mielnicka, C. (2005). The effect of age on the morphometric sperm traits of domestic pigs (*Sus scrofa domestica*). *Cellular & Molecular Biology Letters* 10: 3-13.

Korenberg, R., Therman, E. y Denniston, C. (1978). Hot spots and functional organization of human chromosomes. *Human Genetics* 43: 13- 22.

Koykul, W., Baguma-Nibasheka, M., King W. A. y Basrur, P. K. (2000). Meiosis and apoptosis in germ cells of X-autosome translocation carrier boars. *Molecular Reproduction and Development* 56(4): 448-457.

Krallinger, H.F. (1931). Cytologische studien in einigen Haussäugetieren. *Arch. Tiernähr. Tierz* 5:127. Citado por: Crew, F.A.E. y Koller, P.C. (1939) Cytogenetical analysis of the chromosome in the pig. *Proc. Roy. Soc. Edinb.* 57:163.

Kuokkanen, M. T. y Mäkinen A. (1987). A reciprocal translocation (7q-;12q+) in the domestic pig. *Hereditas* 106: 147-149

Kuokkanen, M. T. y Mäkinen A. (1988). Reciprocal chromosome translocations, (1p-;11q+) and (1p+;15q-), in domestic pigs with reduced litter size. *Hereditas* 109: 69-73.

Lacadena, J.R. (1995). Cytogenetics: yesterday, today and forever. A conceptual and historical view. *Chromosomes Today*, vol 12. Eds. N. Henrique-Gil, J. Parker y M.J. Puertas, Chuman & Hall, London.

Lacadena, J.R.(1996). *Citogenética* (1ª edición). Ed: Complutense. Madrid.

Lamberson, W.R. (1990) Genetic parameters of quantitative characters. *Genetics of swine*. L.D. Young (Ed.), Nebraska: 70-106.

Larsson, K. & Einarsson, S. 1984. Seminal changes in boars after heat stress. *Acta Veterinaria Scandinavica* 25, 57-66.

Legault, C. (1978) Génétique et reproduction chez le porc. Journées de la Recherche Porcine en France 13 :43-60.

Legault, C. y Popescu, C. P. (1981). Mise en évidence et conséquences zootechniques d'une translocation réciproque chez le porc. Journées de la Recherche Porcine: 239-246.

Legault, C. y P. Popescu (1993). Les translocations réciproques chez le porc domestique: détection, éradication et prévention. *Élevage et Insémination* 254: 1-12.

Legault, C., Caritez, J. C., Lagant, H. y Popescu, C. P. (1995). Étude expérimental du rôle de l'espace utérin sur la viabilité embryonnaire et foetale. . Journées de la Recherche Porcine en France 27: 25-30.

Legault, C. (1998). Génétique et prolificité chez la truie. *INRA Prod. Anim.* 11 (3):211-256.

Leman, A.D., Hurgten, J.P. y Hilley, H.D. (1979). Influence of Intrauterine Events on Postnatal Survival in the Pig. *Journal of Animal Science.* 49:221-224

Lifstchytz, E. y Lindsey, D.L. (1979). The role of X.chromosome inactivation during spermatogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 69:182-186.

Lin, C. C., Biederman, B. M., Jamro, H. K., Hawthorne, A. B. y Church, R. B. (1980). Porcine (*Sus scrofa domestica*) chromosome identification and suggested nomenclature. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 22: 103-116.

Lockniskar, F. (1974). *Zb. Biol. Fak. II. Kmet*, 23, 129-134.

Lodja, L. 1989. Chromosome aberrations: important indicators of environmental genotoxic effects in farm animals. *Cytogenetics of Animals*. Ed. Halnan, C.R.E., CAB International Wallingford (United Kingdom).

Long, S. E. (1991). Reciprocal translocations in the pig (*Sus scrofa*): a review. *Veterinary Records* 128: 275-278.

Luque, J. y A. Herráez (2006). Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética Ed. Elsevier.

Madan, K., Ford, C. E. y Polge, C. (1978). A reciprocal translocation, t(6p+;14q), in the pig. *Journal of Reproduction and Fertility* 53: 395-398.

MaFee, A.F., Knight, M., y Banner, M.W. (1966). An intersex pig with XX/XY leucocyte mosaicism. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 8(3): 502-505.

Mäkinen, A. y Remes, E. (1986). Low fertility in pigs with rcp(4q+ ;13q-) translocation. *Hereditas* 104: 223-229.

Mäkinen, A., Kuokkanen, M. T., Niini T. y Perttola, L. (1987). A complex three breakpoint translocation in the domestic pig. *Acta Veterinaria Scandinavica* 28(2): 189-196.

Mäkinen, A., Pitkänen, T. y Andersson, M. (1997). Two cases of reciprocal translocations in domestic pigs producing small litters. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 114(5): 377-384.

Mäkinen, A., Andersson, M. y Nikunen, S. (1998). Detection of the X chromosomes in a Klinefelter boar using a whole human X chromosome painting probe. *Animal Reproduction Science* 52: 317-323.

Makino, S. (1944). The chromosome complex of the pig. *Cytologia* 13:170.

MAPA (2007). Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino. <http://www.mapa.es>

Martin, R.H. (1984). Comparison of chromosomal abnormalities in hamster egg and human sperm pronuclei. *Biology of Reproduction* 31:819-825.

Martin, R.H., Chronos, J.E., Lowry, R.B., Pattison, L., Barclay, L. y Ko, E. (1994). Analysis of sperm chromosome complements from a man heterozygous for a pericentric inversion of chromosome 1. *Human Genetics* 93:2.

Martinat-Butte, F., Quesnel, H., Prunier, A., Tournut, J. y Terqui, M. (1996). Reproduction de la truie: bases physiologiques et maîtrise. *Revue de Médecine Vétérinaire* 147: 33-46.

Martini, E., Flaherty, S.P., Swann, N.J., Payne, D. y Matthews, C.D. (1997). Analysis of unfertilized oocytes subjected to intracytoplasmic sperm injection using two rounds of fluorescence in-situ hybridization and probes to five chromosomes. *Human Reproduction* 12(9):2011-2018.

Massip, K., Berland, H., Bonnet, N., Calgaro, A., Billoux, S., Baquié, V., Mary, N., Bonnet-Garnier, A., Ducos, A., Yerle, M. y Pinton, A. (2008). 18th International Colloquium on Animal Cytogenetics and Gene Mapping. 8-10 Junio. Bucarest, Rumanía.

Masuda, H., Okamoto, A. y Waide, Y. (1975). Autosomal abnormality in a pig. *Japanese Journal of Zootechnical Science* 46(12): 671-676.

Matsuda, T., Horii, Y., Hayashi, K. y Yoshida, O. (1991). Quantitative analysis of seminiferous epithelium in subfertile carriers of chromosomal translocations. *Int. J. Fertil.* 36(6): 344-351.

Mazzari, G., du Mesnil du Buisson, F. y Ortavant, R. (1968). Action de la temperatura et de la lumière sur la spermatogenèse la production et le pouvoir fécondant du sperm chez le vertrat. *Proc. 6th. Int. Congr. Anim. Reprod. & A.I., Paris, Vol.I, 305-308.*

McCauley, T. C., Mazza, M. R., Didionc, B. A., Mao, J., Wu, G., Coppola, G., Coppola, G. F., Di Berardino, D. y Daya, B. N. (2003). Chromosomal abnormalities in Day-6, in vitro-produced pig embryos. *Theriogenology* 60:1569-1580.

McFeely, R.A. (1967). Chromosome abnormalities in early embryos of the pig. *Journal of Reproduction and Fertility* 13: 579-581.

McKenzie, F. F. (1931). A method for collection of boar semen. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 78:244-246.

McKinlay-Gardner, R.J. y Sutherland, G.R. (2004). Basic concepts: elements of medical genetics. Chromosome abnormalities and genetic counselling. Eds. McKinlay-Gardner R.J. & Sutherland G.R. Oxford University Press (New York).

McNitt, J.I. & First, N.L. 1970. Effects of 72-hour heat stress on semen quality in boars. *International Journal of Biometeorology* 14, 373-380.

- Mikesaar, R., Pauklin, M., Lissitsina, J. Y Punab, M. (2006). Reciprocal translocation t(7;16)(q21.2;p13.3) in an infertile man. *Fertility and Sterility* 86 (3): 719-726.
- Milovanov, V. K. (1938). *Isskustvenoye Ossemenenie Selsko-Khozasvennykh Jivotnykh* [The Artificial Insemination of Farm Animals]. Seljhozgiz, Moscow.
- Miyake, Y., Kawata, K., Ishikawa, T. y Umezu, M. (1977). Translocation heterozygosity in a Malformed Piglet and Its Normal Littermates. *Teratology* 16: 163-168.
- Miyake, Y.I., Matsubara, T. y Hata, M. (1994). Chromosomal pericentric inversion detected in a sow and her piglets. *Theriogenology* 42: 241-246
- Kaneda, Y. Translocation heterozygosity in a Malformed Piglet and Its Normal Littermates. *Teratology* 16: 163-168.
- Moon, R.G., Rahad, M.N. y Mi, M.P. (1975). An example of polyploidy in pig blastocysts. *Journal of Reproduction and Fertility* 45:147-149.
- Moor, R.M., Mattioli, M., Dling, J. y Nagai, T. (1990). Maturation of pig oocytes in vivo and in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility* 40: 197-210.
- Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J. y Battips, D.M. (1960). Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental Cell Research* 20: 613-616.
- Muldal, S. (1948). The chromosomes of mammals. *John Innes Hort. Inst. 30th Ann. Reports*:23. Citado por Melander, Y. (1951). Polyploidy after colchicine treatment of pigs. *Hereditas* 37:288.
- Neal, M. S., Reyes, E. R., Fisher, K. S., King, W. A. y Parvathi, K. B. (1998). Reproductive consequences of an X-autosome translocation in a swine herd. *Canadian Veterinary Journal* 39: 232-237.
- Nes, N. (1969). Chromosome aberrations in animals. *Nord. Jordbrug*: 393-410
- Nicholas, F.W. *Genética Veterinaria*. 1987. Ed. Acribia. Zaragoza.
- Nishikawa, Y. (1964). History and development of artificial insemination in the world. In: *Proc. 5th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem.*, Trento, Italy. 7:163-259.
- Niwa, T. (1958). Artificial insemination with swine in Japan. *Natl. Inst. Agric. Sci., Chiba-shi, Japan*.
- Oliva, R., Ballesta, F., Oriola, J. y Clària, J. (2004). *Genética mèdica*. Ed. Universitat de Barcelona. pp.346.
- Oliver-Bonet, M. (2003). *Estudi citogenètic i molecular del process meiotic en individus portadors de translocacions recíproques equilibrades*. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Painter, T.S. (1923) *Studies in mammalian spermatogenesis, II. The spermatogenesis of man*. *Journal of Experimental Zoology* 37:291-321
- Paris Conference (1971) *Suppl.* (1975). *Standardization in Human cytogenetics*. *Cytogenetics and Cell Genetics* 15: 203-238.

Parkanyi, V., Fulop, L., Babusik, P. y Kuliskova, L. (1992). Reciprocal chromosome translocation rcp(5q+;15q-) in sterile boar with andrologic finding. . Proc. 10th. Int. Colloq. Cytogenet. Dom. Anim. Utrecht. The Netherlands., Utrecht University.

Peláez, J., Domínguez, J.C., Peña, F.J. y Alegre, B. (1999). El proceso de maduración espermática en la especie porcina: hechos que determinan la adquisición de la capacidad fecundante. Med. Vet. 16(3): 120-132.

Perry J.S., Rowlands IW. Early pregnancy in the pig. J. Reprod. Fert. 1962; 4: 175-188.

Pinart, E., Sancho, S., Briz, M., Bonet, S. y Garcia, N. (1999). Characterization of the semen quality of postpuberal boars with spontaneous unilateral abdominal cryptorchidism on the right side. Anim Reprod Sci 55:269-278.

Pinton, A., Ducos, A., Berland H., Seguela A., Brun-Baronnat C., Pinton P., Darre, A., Darre R., Schmitz A., Crihiu, E.P. y Yerle M. (1998). Characterization of reciprocal translocation in pigs using dual-colour chromosome painting and primed in situ DNA labing. Chromosome Research 6(5): 361-366.

Pinton, A., Ducos, A., Berland, H., Séguéla, A., Brun-Baronnat, C., Darre, A., Darre, R., Schmitz, A. y Yerle, M. (2000). Chromosomal abnormalities in hypoprolific boars. Hereditas 132: 55-62.

Pinton, A., Pailhoux, E., Piumi, F., Rogel-Gaillard, C., Darre, R., Yerle, M., Ducos, A. y Cotinot, C. (2002). A case of intersexuality in pigs associated with a de novo paracentric inversion 9 (p1.2; p2.2). Animal Genetics 33(1): 69-71.

Pinton, A., Ducos, A. y Yerle, M. (2003). Estimation du taux de gamètes génétiquement déséquilibrés dans la semence de verrats porteurs d'anomalies chromosomiques par la technique de "SpermFISH". Journées de la Recherche Porcine: 317.

Pinton, A. (2004a). Caracterisation d'anomalies chromosomiques dans l'espèce porcine et analyse des déséquilibres chromosomiques dans les gamètes des reproducteurs porteurs hétérozygotes. Tesis doctoral. École pratique des hautes études science de la vie et de la terre.

Pinton, A., Ducos, A. y Yerle, M. (2004b). Estimation of the proportion of genetically unbalanced spermatozoa in the semen of boars carrying chromosomal rearrangements using FISH on sperm nuclei. Genetics Selection Evolution 36: 123-137.

Pinton, A., Faraut, T., Yerle, M., Gruand, J., Pellestor, F. y Ducos, A. (2005). Comparison of male and female meiotic segregation patterns in translocation heterozygotes: a case study in an animal model (*Sus scrofa domestica* L.). Human Reproduction 20(9): 2476-82.

Pinton, A., Bonnet, N., Calgaro, A., Ferchaud, S., Billoux, B., Bacquié, V., Mary, N., Bonnet-Garnier, A., Yerle, M. y Ducos, A. (2008). 18th International Colloquium on Animal Cytogenetics and Gene Mapping. 8-10 Junio. Bucarest, Rumanía.

Piumi, F., Vaiman, D., Crihiu, E.P., Guerin, B., Humblot, P. (2001). Specific cytogenetic labeling of bovine spermatozoa bearing X or Y chromosomes using fluorescent in situ hybridization (FISH). Genetics Selection Evolution 33: 89-98.

Plachot, M. (1995). Oocyte-genetic aspects. En: Gametes: the oocyte. Grudzinskas, J.G. y Yovich, J.L. Ed. Cambridge University Press.

Polge, C. (1956). The development of artificial insemination service for pigs. *Animal Breeding Abstr* 24:209-217.

Polge, C. (1982). Embryo transplantation and preservation. En: *Control of Pig Production*. Ed. D.J.A. Cole & G.R. Foxcroft, Butterworths Scientific, London: 277-291.

Pope, W.F y First, N.L. (1985). Factors affecting the survival of pig embryos. *Theriogenology* 23(1): 91- 105.

Pope, W. F. (1994). Embryonic mortality in swine. In: R. D. Geisert y M. T. Zavy (ed.). *Embryonic Mortality in Domestic Species*. CRC Press, Boca Raton, FL: 53-78.

Popescu, C. P. y Legault, C. (1979). Une nouvelle translocation réciproque t(4q+;14q-) chez le porc domestique (*Sus scrofa domestica*). *Annales de Génétique et Sélection Animal* II(4): 361-369.

Popescu, C. P. y Boscher, J. (1982). Cytogenetics of preimplantation embryos produced by pigs heterozygous for the reciprocal translocation (4q+;14q-). *Cytogenetics and Cell genetics* 34(1-2): 119-123.

Popescu, C. P., Boscher, J. y Tixier, M. (1983). Une nouvelle translocation réciproque t, rcp (7 q- ; 15 q+) chez un verrat « hypoprolifique. *Genetics Selection Evolution* 15(4): 479-488.

Popescu, C. P., Bonneau, M., Tixier, M., Bahri, I. y Boscher, J. (1984). Reciprocal translocations in pigs. Their detection and consequences on animal performance and economic losses. *Journal of Heredity* 75(6): 448-42.

Popescu, C. P. y Boscher, J. (1986). A new reciprocal translocation in a hypoprolific boar. *Genetics Selection Evolution* 18(2): 123-130.

Popescu, C. P. y Legault, C. (1988). Anomalies chromosomiques et hypoprolificité chez le porc. *Journées de la Recherche Porcine* 20: 297-304.

Popescu, C. P., Boscher, J. y Zhang, S. Q. (1988). Cytogenetic evaluation of boars with a low prolificacy: two new types of chromosome translocation. *Annales de Génétique* 31(2): 75-80.

Prunier, A., Dourmad, J.Y. y Etienne, M. (1994). Effect of light regimen under various ambient temperatures on sow and litter performance. *Journal of Animal Science* 72: 1461-1466.

Pursel V.G., Johnson L.A. y Rampacek G.B. (1972). Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *Journal of Animal Science* 34:278-283.

Quiles, A. y Hevia, M.L. (2005). Factores que afectan a la eficiencia del verraco. *Producción Animal* 213: 4-14.

Quilter, C. R., D. Wood, O. I. Southwood y D. K. Griffin (2003). X / XY/ XYY mosaicism as a cause of subfertility in boars: a single case study. *Animal Genetics* 34: 51-54.

Ravaorimanana, B., Villagomez, D.A.F. y Gustavsson, I. (1992). Proc. 10th. Int. Colloq. Cytogenet. Dom. Anim., Utrecht Univ., The Netherlands, August 18-21, 14.

Rens W., Yang F., Welch G., Revell S., O'Brien P.C., Solanky N., Johnson, L.A., y Ferguson-Smith M.A. (2001). An X-Y paint set and sperm FISH protocol that can be used for validation of cattle sperm separation procedures. *Reproduction* 121: 541-546.

Rieger R., Michaelis, A. y Green, M.M. (1976). Glossary of Genetics: Classical and Molecular (4th edition). Ed: Springer- Verlag. Berlin.

Rieger, R., Michaelis, A. y Green, M.M. (1991). Glossary of Genetics: Classical and Molecular (5th edition). Ed: Springer- Verlag. Berlin.

Riggs, P. K., Kuczek, T., Chrisman, C. L. y Bidwell, C. A. (1993). Analysis of amphidicolin-induced chromosome fragility in the domestic pig (*Sus scrofa*). *Cytogenetics and Cell Genetics* 62(2-3): 110-116.

Roca, J., Carvajal, G., Lucas, X., Vázquez, J.M. y Martínez, E.A. (2003). Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. *Theriogenology* 60:77-87.

Rodríguez, A., Sanz, E., De Mercado, E., Gómez, E., Doménech, V., Martín, M., Carrascosa, C., Gómez, E. y Sánchez, R. (2008). 18th International Colloquium on Animal Cytogenetics and Gene Mapping. 8-10 Junio. Bucarest, Rumanía.

Roeder, G.S. y Bailis, J.M. (2000). The pachytene checkpoint. *Trends Genetics*, 16(9): 395-403.

Ronne, M. (1995). Localization of fragile sites in the karyotype of *Sus scrofa domestica*: present status. *Hereditas* 122: 153-162.

Rothschild, M.F. (1996). Genetic and reproduction in the pig. *Reproduction Livestock Science* 42:143-151.

Roux C., Tripogney, C., Morel, F., Joanne, C., Fellmann, F., Clavequin, y M.C., Bresson, J.L. (2005). Segregation of chromosomes in sperm of Robertsonian translocation carriers. *Cytogenetic and Genome Research* 111: 291-296.

Rubes, J., Vozdová, M. y Kubícková, S. (1999). Aneuploidy in pig sperm: multipcolor fluorescence in situ hybridization using probes for chromosomes 1,10, and Y. *Cytogenetics and Cell Genetics* 85: 200-204.

Ruddle, F. H. (1961). Chromosome variations in cell populations derived from pig kidney. *Cancer Research* 21:885.

Sachs, L. (1954). Chromosome numbers and experimental polyploidy in the pig. *Journal of Heredity* 45:21.

Saiz, F., De Alba, C., Marigota, P., Corchera, B.D. y Martin, S. (1994). Estudio de la calidad del semen del verraco a través de la evaluación de parámetros bioquímicos. *Porci* 24: 57-76.

Sánchez, J., Gonzalez, J., Illera, M.J., Lorenzo, P.L. y Oresanz, L.M. (1996). (H3) Heparin binding in boar spermatozoa: Characterization and correlation with routine semen quality parameters. *Biology of Reproduction* 55:860-867.

Sánchez, R. (2005). Comunicación personal: raulss@inia.es.

Seabright, M. (1971). A rapid banding technique for human chromosomes. *The Lancet* 2: 971-972.

Searle, A.G. (1982). The genetics of sterility in the mouse. *Genetic Control of Gamete Production and Function* Eds P. G. Crosignani y L.Rubin. Academic Press Grune and Stratton, New York, p. 93-114.

- Shan, J., Zhang, C., Sun, J. y Li, L. Synaptonemal complex analysis of 13/17 Robertsonian translocation in the domestic pig. 21(2): 96-103
- Sharma, A., Sahai, R. y Vijn, R.K. (1991). Indian Journal of Animal Science 61(12): 1335-1337.
- Schwerin, M., Golish, D. y Ritter, E. (1986). A Robertsonian translocation in swine. Genetics Selection Evolution. 367-374.
- Singh, B., Fisher, K. R. S., Yadav, B. R. y Basrur, P. K. (1994). Characterization of a translocation and its impact on fertility in the pig. Genome 37: 280-288.
- Sirigu, P., Turno, F., Usai, E. y Perra, M.T. (1993). Histochemical study of the human bulbourethral (Cowper's) glands. Andrologia, 25(5):293-299.
- Slimane, W., Heyman, Y., Lavergne, Y., Humblot, P., Renard, J.P. (2000). Assessing chromosomal abnormalities in two cell bovine in vitro-fertilized embryos by using fluorescent in situ hybridization with three different cloned probes. Biology of Reproduction 62:628-35.
- Somlev, B., Hansen-Melander, E., Melander, Y., Holm, L. (1970). XX-XY chimerism in leucocytes of two intersexual pigs. Hereditas 64(2):203-210.
- Spalding, J. F. y Berry R. O. (1956). A chromosome study of the wild pig (*Pecari angulatus*) and the domestic pig (*Sus scrofa*). Cytologia 21:81.
- Speed, R.M. (1989). Heterologous pairing and fertility in humans. Fertility and Chromosome Pairing: Recent Studies in Plants and Animals. Ed C. B. Gillies, CRC Press, Boca Raton, Fla, p. 2-35.
- Spies, H.G., Zimmerman, D.R., Self, H.L. y Casida, L.E. (1960). Maintenance of early pregnancy in ovariectomized gilts treated with gonadal hormones. Journal of Animal Science 19 (1): 114.
- Steel, M. W. y Breg, W.R. (1966). Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. Lancet i: 383-385.
- Sumner, A.T., Evans, H.J. y Buckland, R.A. (1971). A new technique for distinguishing between human chromosomes. Nature, 232: 31-32.
- Svendsen, J. (1992). Perinatal mortality in pigs. Animal Reproduction Science 28: 59-67.
- Swanson, C.P. (1960). Cytology and Cytogenetics. Ed: Macmillan & Co., Ltd. London.
- Swierstra, E.E. (1968). Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis. Anatomical Record 161:171-185.
- Switonski, M. (1991). Paracentric inversion involving NOR of chromosome 8 in a boar: studies of synaptonemal complexes under a light microscope. Genetics Selection Evolution 23: 181-189.
- Switonski, M., G. Stranzinger, P. K. Basrur y R. M. Kenney (1991). Chromosome-pairing in trisomic spermatocytes of males with normal or altered karyotypes. Genetics Selection Evolution 23(1): 206-211.

- Switoński, M. y Stranzinger, G. (1998). Studies of synaptonemal complexes in farm mammals--a review. *Journal of Heredity* 89(6): 473-80.
- Tarocco, C., Franchi, F y Croci, G. (1987). A new reciprocal translocation involving chromosomes 1/14 in a boar. *Genetics Selection Evolution* 19(3): 381-386.
- Tease, C. (1998). Chiasma distributions and chromosome segregation in male and female translocation heterozygous mice analysed using FISH. *Chromosoma* 107: 549-558.
- Therman, E. y Susman, M. (1992). *Human Chromosomes. Structure, behavior and effects*. Ed. Springer-Verlag.
- Tjio, J.H. y Levan, A. (1956). The chromosome number of man. *Hereditas* 42:16.
- Tjio, J.H. y Puck, T.T. (1958). The somatic chromosomes of man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 44:1229-1237.
- Tjio, H. y Levan, A. 1956. The chromosome number of man. *Hereditas* 42: 1-6.
- Tzocheva, K. (1990). *Proc. 9th Eur. Colloq. Cyt. Dom. Anim., Toulouse, France*, 36.
- Tzocheva, K. (1994). A new reciprocal translocation rcp(1p-;11p+) in the karyotype of the boar *Hereditas* 120: 187-189.
- Van Blerkom, J. (1994). Origin and detection of chromosomal defects in human oocytes and embryos. *Genetics of gametes and embryos, Sero Symposium, New York*.
- Van der Hoeven, F.A., Cuijpers, M.P. y de Boer, P. (1985). Karyotypes of 3- or 4-day-old pig embryos after short in-vitro culture. *Journal Reproduction and Fertility* 75: 593-597.
- Villagómez, D. A. F., Switonski, M., Singh, B., Fisher, K. R. S., Gustavsson, I. y Basur, P. K. (1991a). Synaptonemal complex analysis of an X-autosome translocation-carrier in the domestic pig. *Genetics Selection Evolution* 23(1): 222-225.
- Villagomez, D. A. F., Gustavsson, I. y Polen, L. (1991b). Synaptonemal complex analysis of reciprocal chromosome translocations in the domestic pig. *Genetics Selection Evolution* 23(Suppl 1): 217-221.
- Villagómez, D. A. F., Gustavsson, I., Alabay, B. y Plöen, L. (1993). Meiotic chromosome asynapsis in a boar with a reciprocal translocation and acquires testicular degeneration. *Hereditas* 118: 101-111.
- Villagómez, D. A. F., Gustavsson, I. y Plöen, L. (1995a). Synaptonemal complex analysis in a boar with tertiary trisomy, product of a rcp(7;17)(q26;q11) translocation. *Hereditas* 122: 269-277.
- Villagómez, D. A. F., Gustavsson, I., Jönsson, L. y Plöen, L. (1995b). Reciprocal chromosome translocation, rcp(7;17)(q26;q11), in a boar giving reduced litter size and increased rate of piglets dying in the early life. *Hereditas* 122: 257-267.
- Vincent, M.C., Daudin, M., De, M.P., Massat, G., Mieusset, R., Pontonnier, F., Calvas, P., Bujan, L. y Bourrouillou, G. (2002). Cytogenetic investigations of infertile men with with low sperm counts: a 25-year experience. *Journal of Andrology* 23(1): 18-22.
- Vogt, D.W. (1968). Sex chromosome mosaicism in a swine intersex. *Journal of Heredity* 59(3):166-167.

Voiculescu, I. y Lungeanu, A. (1980). Some comments on the G-bands in pig chromosomes. 4th Eur. Colloq. cytogenet. Domest. Anim. : 364-370.

Vozdova, M, Machatkova, M., Kubickova, S., Zudova, D., Jokesova, E. y Rubes, J. (2001). Frequency of aneuploidy in pig oocytes matured in vitro and of the corresponding first polar bodies detected by fluorescent in situ hybridization. *Theriogenology* 56(5): 771-776.

Waldeyer, W. (1988). Citado por Rieger et al., (1991). *Arch. Mikr. Anat.* 32:1.

Wettemann, R. P. y Bazer, F. W. (1985). Influence of environmental temperature on prolificacy of pigs. *Journal of Reproduction and Fertility* 33(Suppl.): 199-208.

Woodsdalek, J.E. (1913). Spermatogenesis of the pig with special reference to the accessory chromosomes. *The Biological Bulletin.* 25:8.

Yang, H., Jung, H.R., Solinas-Toldo, S., Lang, E. R., Bolt, R. Fries y Stranzinger, G. (1992). A reciprocal whole-arm translocation, rcp(1;6)(1p6p;1q6q) in a boar, localization of the breakpoints, and reassignment of the genes for glucose phosphate isomerase (GPI) and calcium release channel (CRC). *Cytogenetics and Cell Genetics* 61(1): 67-74.

Yerle, M., O. Galman y G. Echard (1991). The high-resolution GTG-banding pattern of pig chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics* 56: 45-47.

Yunis, J., Sorenga, L. y Bowea, E. 1987. Fragile sites are targets of diverse mutagens and carcinogens. *Oncogene* 1: 56-69.

Zhang, T. Q., Buoen, L. C., Weber, A. F., Christianson, B., Morrison, R., Marsh, W. y Ruth, G. R. (1992). A chromosomal reciprocal translocation (1q+; 14q-) in a boar siring reduced litter sizes. *Theriogenology* 38(5): 799-806.